

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LE PARASITISME INTRACELLULAIRE ET INTRANUCLÉAIRE CHEZ L'HOMME

PAR M. SOUDAKEWITCH,

Prosecteur à l'Institut pathologo-anatomique de Kieff.

PARASITISME INTRACELLULAIRE DES NÉOPLASIES CANCÉREUSES

I

Un observateur, initié à la pathogénèse et aux tableaux microscopiques des diverses maladies infectieuses, n'admet pas sans peine que les microbes jouent un rôle dans l'étiologie du développement des néoplasies épithéliales et conjonctives. D'ordinaire, en effet, les microbes n'édifient pas, ils détruisent. Les néoplasies que l'on rencontre dans les maladies microbiennes ne sont constituées que par des leucocyte et autres phagocytes mésodermiques.

Dans aucune de ces maladies, on n'observe de modifications progressives des tissus, tels que les tissus épithéliaux, par exemple, et si, dans quelques affections de la peau, comme la lèpre, la tuberculose cutanée, on observe un développement assez intense de la couche papillaire, ce n'est pas à l'influence directe des bactéries qu'il est dû. Les microbes paraissent éviter le tissu épithélial.

Le rôle des microbes dans le développement des condylômes aigus (*condylomata acuminata*) n'est point non plus bien établi.

Il n'est donc pas étonnant que les recherches bactériologiques n'aient pas donné de résultats positifs au sujet de l'étiologie des carcinomes. Les travaux de MM. Nedopile, Scheurlein et Koubassow n'ont pas résolu cette question, qui est donc à reprendre.

Les cinq dernières années ont vu paraître des descriptions de plus en plus fréquentes de divers corps inclus dans les cellules cancéreuses. Quelques auteurs prennent ces inclusions pour des Sporozoaires ou des organismes voisins. Ils inclinent même à leur attribuer la cause du cancer (Thoma, Darier, Albaran, Russel, Wickham, Malassez, Michaux, Nils Sjöbring, Pfeiffer, Kossinsky, etc.).

D'autres savants croient que ces corps ne sont autre chose que des leucocytes ayant pénétré dans les cellules cancéreuses, où leur protoplasme subit une dégénérescence partielle (Borel, Klebs, Schütz, Hauser, Firket, Chattock-Ballance, Éberth, etc.).

Il est évident qu'on ne peut nier la possibilité d'une dégénérescence partielle, par exemple hyaline, graisseuse ou muqueuse des cellules. La supposition, émise déjà en 1868 par Stendener¹, d'une invagination des cellules cancéreuses les unes dans les autres, est aussi parfaitement plausible, surtout vu l'accroissement si rapide de certains cancers et la résistance des tissus environnants. Je vais pourtant tâcher de prouver dans cet article que la plupart des corps inclus, décrits dans les cellules cancéreuses, doivent être regardés comme des produits étrangers, je dirai même comme de vrais parasites appartenant au groupe des Sporozoaires.

J'ai d'autant plus hâte de le faire, que dans son dernier travail sur ce sujet, M. Steinhaus² dit que les formes qu'il a vues dans les cellules cancéreuses ne suffisent pas pour établir le parasitisme.

En examinant de temps en temps des carcinomes, opérés dans la clinique chirurgicale du professeur Rineck ou provenant d'autopsies, j'ai souvent pu observer des inclusions tantôt intracellulaires, tantôt intranucléaires. Elles se

1. Ueber d. invaginierte Zellen. *Arch. f. m. Anat.*, B. 4, s. 188.

2. Ueber Carcinom-Einschlüsse. *Virchow's Archiv.*, t. 426, p. 533.

présentaient sous forme de cavités rondes ou ovales, quelquefois à parois distinctes. Ce n'est que rarement que j'eus la chance de voir à leur intérieur une ou plusieurs granulations centrales ou excentriques. Dans l'automne de l'année 1890, le professeur Morosoff eut l'amabilité de mettre à ma disposition une tumeur de parotide opérée par lui. L'examen microscopique démontra que cette tumeur était un cancer glandulaire. Il contenait de nombreuses inclusions intracellulaires et surtout intranucléaires. On en trouvait souvent 5 à 10 sur un même champ visuel. Ces corps inclus avaient une forme ronde ou ovale, et des parois résistantes. Leurs dimensions étaient différentes, depuis celle d'un point jusqu'à une dimension beaucoup plus grande. Dans ce dernier cas, la substance nucléaire était complètement foulée et atrophiée. Malheureusement je ne trouvai aucun contenu dans ces cavités (la tumeur était conservée dans le liquide de Müller et ensuite dans de l'alcool). Pendant mon séjour à Paris, je montrai des préparations de ce cancer à M. Metchnikoff, qui se prononça pour la nature parasitaire des corps inclus.

Après mon retour en Russie, je me mis à étudier divers cancers, surtout les cancers glandulaires. Je commençai par examiner le matériel de l'Institut pathologo-anatomique, conservé dans le liquide de Müller et l'alcool. Naturellement, j'étudiai de préférence le matériel chirurgical et non anatomique. Je commençai par les nombreux cancers de la glande mammaire, en examinant toujours les ganglions lymphatiques enlevés avec le foyer primordial.

Les coupes faites avec le microtome de Reichert étaient incluses dans de la celloïdine, et étaient colorées par différentes méthodes. C'est surtout le carmin borique que j'employais, en prenant pour couleur supplémentaire le bleu de méthylène aqueux, le vert iodé ou l'hématoxyline et l'éosine.

J'ai étudié en tout 59 cas de cancers (cancers des glandes mammaires, de la lèvre inférieure, des glandes lacrymales, du cerveau, du foie, de l'estomac, du duodénum, de l'œsophage, de la langue, du testicule et du rectum).

Je trouvais toujours des corps inclus intracellulaires et intranucléaires. Dans certains cas, ils étaient très nombreux (comme, par exemple, dans un carcinome de la glande mam-

maire); dans d'autres, beaucoup plus rares; il n'y avait pas d'exemple où ils fussent absents. En examinant les préparations, je choisisais les vacuoles renfermant un contenu quelconque, sans oublier jamais les possibilités d'erreur et de confusion indiquées plus haut.

Mes observations me permettent de donner une planche de figures (Pl. V), représentant les formes les plus nettes que j'ai pu voir. Pour économiser la place et simplifier les dessins, j'ai cru pouvoir ne point reproduire toujours le corps des cellules et leurs noyaux.

La figure 1 (Pl. V) représente la première inclusion qui attira mon attention. Une cellule cancéreuse de la glande mammaire renfermait un corps régulier, sphérique, qui avait refoulé et visiblement comprimé le noyau. Ce corps faisait l'effet d'une bulle à parois résistantes; sur la surface intérieure des parois étaient disposés de petits corps clairs et arrondis. Ils étaient bien visibles à cause de la coloration intense de la paroi par l'hématoxyline. Ces corps inclus étaient indubitablement étrangers à la cellule cancéreuse, et on ne pouvait les confondre ni avec le noyau, ni avec le protoplasme dégénéré, ni avec les leucocytes.

Le reste des figures est disposé sur la planche à peu près d'après la marche graduelle de complication de leur structure. Chaque corps inclus est muni d'une capsule plus ou moins épaisse. Leurs formes sont très variées, tantôt rondes (fig. 2, 3, 19, 23), tantôt irrégulières, dans le genre d'une cellule amiboïde (fig. 9, 10, 11, 12), tantôt vermiformes (fig. 13, 14), ou semilunaires (fig. 15, 16, 20). Dans quelques-uns, autour des corps amiboïdes apparaît une couche annulaire de substance finement granuleuse (fig. 17, 18). Puis on aperçoit une formation analogue au noyau (fig. 15, 20, 21) et, enfin, un vrai noyau, ayant une affinité pour les couleurs spécialement nucléaires (fig. 22). Finalement, je trouvai dans la cellule cancéreuse une autre cellule moins grande, ayant une capsule distincte et se rapprochant d'un leucocyte par sa structure et ses dimensions (fig. 25). Les inclusions les plus complètes sont celles représentées sur les figures 23, 26, et sur la figure 1, Planche VI. Elles ont, ou bien deux capsules (fig. 26 et 1, Pl. VI), ou bien peuvent être regardées comme des inclusions doubles (fig. 27). Le contenu des

inclusions est parfois multiple, tantôt volumineux (fig. 5, 6), tantôt très petit (fig. 7).

Dans des cas comparativement rares, il y avait 2, 3 et même 5 corps inclus dans une cellule (fig. 2, Pl. VI). Ces corps étaient alors toujours moins grands que lorsqu'ils étaient à l'état d'inclusions isolées.

Tous les tableaux représentés dans ce mémoire, ainsi que toute une série d'autres observés par moi, me confirmèrent de plus en plus dans l'idée que les cellules cancéreuses renfermaient des parasites.

Dans de vieilles préparations de cancer, faites à différentes époques et conservées dans le liquide de Flemming, je retrouvai de petites cellules dans celles du cancer; elles étaient renfermées à l'intérieur de vacuoles à parois distinctes, provenant évidemment de la solidification du protoplasme (Pl. VI, fig. 3, 4).

Il fallait donc attendre de nouveaux cas et modifier la méthode de durcissement.

Au mois de novembre 1891, mon honoré collègue, M. le Dr Favorsky, rencontra dans une autopsie (à l'hôpital militaire) une carcinomatose étendue dans la cavité abdominale. Il eut la complaisance de mettre ce matériel à ma disposition.

C'est le pancréas qui servait évidemment de foyer primordial.

On trouva de plus une infiltration cancéreuse accusée des ganglions rétro-péritonéaux et des ganglions lymphatiques du mésentère. Le foie, la rate, les poumons, l'intestin grêle contenaient des métastases volumineuses. Les lésions de l'intestin grêle se présentaient sous forme d'ulcères ronds à bords nettement infiltrés. Enfin il y avait une dégénérescence cancéreuse accusée du ganglion de l'aîne droite. Cette tumeur avait la dimension d'un œuf de pigeon. — La veine cave inférieure était bouchée sur l'étendue de 1,5 centimètre, en partie par un coagulum sanguin pâle, en partie par un thrombus cancéreux.

Je conservais en général mon matériel dans le liquide de Müller. Mais en même temps je découpais de petits morceaux dans les régions les plus typiques et non dégénérées, que je divisais en deux parties. L'une était placée dans le liquide de

Müller, l'autre dans une solution à 1 0/0 d'acide osmique. J'opérais ainsi afin de pouvoir comparer les résultats des deux méthodes.

Les morceaux restaient pendant deux jours dans l'acide osmique, et étaient ensuite transportés dans le liquide de Müller¹ pour 3 à 5 jours. Après un lavage soigneux dans de l'eau, on les transportait dans de l'alcool à concentration de plus en plus forte jusqu'à durcissement complet.

Les coupes, faites avec des morceaux qui n'avaient été inclus dans aucune matière, se coloraient très bien par l'hématoxyline ancienne de Ranvier.

Les tableaux que j'observai sur les premières préparations me déconcertèrent.

Sur le fond légèrement jaune sale de la préparation, on voyait à côté des noyaux, colorés comme d'habitude, des formations sphériques et régulières, disséminées et colorées en violet pur plus ou moins intense (phénomène de métachromatie). Cette couleur était tout à fait analogue à une coloration par un violet d'aniline.

La structure des nodosités cancéreuses était parfaitement typique. Dans le foyer primordial on observait le tableau du cancer glandulaire mou, tandis que les métastases présentaient un accroissement du tissu conjonctif et offraient un caractère cirrhotique.

Les cellules cancéreuses se distinguaient par leur grande dimension. Leur protoplasme était tantôt normal, à fines granulations, tantôt consistait en grains brillants, sphériques et homogènes. Ces grains ne se coloraient nullement par l'hématoxyline. Quelquefois, parmi eux, étaient dispersées des gouttes graisseuses beaucoup plus petites et colorées en noir par l'acide osmique. On pouvait observer sur les préparations les transformations progressives du protoplasme en grains homogènes.

Ces cellules, que j'avais observées antérieurement dans d'autres cas, avaient beaucoup d'analogie avec les cellules hyalines des granulomes du rhinosclérome. Pourtant les granulations de ces dernières étaient uniformément fines, et je n'avais pas rencontré du tout de grands amas.

1. J'ai remarqué que les tissus fixés par l'acide osmique se coloraient mieux par l'hématoxyline après avoir séjourné, même peu de temps, dans le liquide de Müller.

Les corps violets avaient des dimensions très différentes, depuis celle d'un coccus, jusqu'à celle de la cellule cancéreuse elle-même. Souvent on voyait des formations petites ou grandes d'une couleur olive; elles ne se coloraient pas du tout. Tous les corps inclus, à de rares exceptions, avaient une capsule distincte à double contour.

Ce n'est que rarement qu'on pouvait voir dans les préparations deux corps complètement semblables; ils différaient tous par leur dimension, et par leur structure très variée.

Les corps les plus simples avaient l'aspect d'un amas olivâtre arrondi, de consistance colloïde; mais ils devenaient de plus en plus compliqués.

Le petit amas s'entourait d'une nouvelle couche, tantôt homogène et tantôt finement granuleuse (Pl. VII, fig 4, 5, 8). Dans certains cas on observait encore un nouvel anneau avec des intervalles minces et réguliers (fig. 13). Quelques-uns avaient à leur périphérie comme des rayons tantôt minces et tantôt épais; ces rayons étaient ou bien uniformes dans leur parcours, et pointus à l'extrémité, ou bien portant de petits renflements aux bouts (Pl. VII, fig. 5, 6, 7, 11, 14). La capsule externe en contenait une autre, pas aussi régulière, plissée, on aurait dit affaissée sur elle-même (fig. 14).

Les rayons de certains corps étaient plus longs, se coloraient par l'hématoxyline, et ressemblaient beaucoup à des pseudopodes (fig. 3, 10).

La capsule contenait souvent plus d'une inclusion; quelquefois il y en avait plusieurs, — 6, 8, 12 et plus. Leur forme était tantôt sphérique, tantôt elliptique, tantôt celle de bâtonnets un peu courbés et renflés aux bouts (fig. 15, 18). De telles capsules, contenant plusieurs corps inclus comparativement volumineux, ne se coloraient pas en violet.

Il y avait des cellules qui renfermaient plusieurs corps inclus, — jusqu'à 15. Ils étaient d'une dimension à peu près égale, ayant chacun une capsule séparée. Leur contenu était tantôt semblable, tantôt différent. Plusieurs fois j'ai trouvé des cellules dont les inclusions étaient de dimension et de structure différente (Pl. VI, fig. 7, 8; Pl. VII, fig. 19).

Les cellules cancéreuses à corps inclus multiples étaient hypertrophiées, et atteignaient de très grandes dimensions. Enfin

les nodules métastatiques renfermaient des capsules à contenu multiple. Ce dernier consistait en granulations tantôt fines et serrées, tantôt rangées en filaments. Les granulations se coloraient en violet foncé par l'hématoxyline. On observait au centre ou à la périphérie de l'amas granuleux une petite masse protoplasmique incolore (Pl. VII, fig. 20, 21).

Il y avait aussi sur les préparations beaucoup de formes semblables aux leucocytes, renfermées dans les vacuoles.

Ne pouvant décrire les nombreuses formes dans toutes leurs diversités, je me contente de donner ici des figures exactes (Pl. VII), plus démonstratives que toute description. La figure 1 représente un foyer métastatique, comparativement rare, du foie. On peut y observer sur le même champ visuel 28 inclusions différentes de grandeur variée.

Un examen superficiel des premières préparations de ce cancer me montra parfaitement que j'avais affaire à un vrai organisme animal étranger, et non à des noyaux déformés, à du protoplasme en voie de dégénérescence, à des leucocytes incorporés, ou à des cellules cancéreuses invaginées. Il m'était beaucoup plus difficile de définir la nature et la place de cet être dans le système zoologique.

J'abandonnai donc aux spécialistes la solution de ce problème, ainsi que l'éclaircissement des relations mutuelles entre les diverses formes, et je continuai à étudier ce cas ainsi que d'autres encore.

Je fis des coupes avec des morceaux du cancer du dernier cas décrit, en les durcissant dans le liquide de Müller. Je vis alors que sur ces nouvelles préparations, les sporozoaires indubitables que je viens de décrire avaient un tout autre aspect. Par exemple on n'observait presque pas de phénomènes de méta-chromatie après la coloration par l'hématoxyline.

Les parasites étaient très nombreux, mais on ne retrouvait plus en eux la trace de la structure compliquée décrite plus haut; ils ressemblaient beaucoup aux formes représentées sur la première planche. Ce sont surtout des corps parfaitement semblables à des colloïdes, ou à une substance muqueuse sans structure, que l'on trouve sur ces préparations.

De tels tableaux pouvaient être facilement interprétés comme

provenant de la dégénérescence protoplasmique des cellules cancéreuses.

Parmi le matériel de l'Institut pathologo-anatomique, je trouvai encore deux cancers de pancréas (l'un secondaire, après un cancer de l'estomac, l'autre primaire, les deux accompagnés de métastases du foie) conservés dans le liquide de Müller. En examinant les préparations faites avec ce matériel, je compris la signification de ces inclusions intracellulaires, volumineuses parfois, que je prenais autrefois pour une modification des noyaux ou pour une dégénérescence protoplasmique.

Les figures 9 et 10 (Pl. VI) présentent les inclusions les plus caractéristiques de ces cas.

Les tableaux étaient quelque peu différents dans le cas d'un cancer extirpé des reins. Ici les inclusions (Pl. VI, fig. 11, 12, 13, 14, 15) avaient l'aspect de bulles sphériques, fortement colorées par l'hématoxyline; leur contenu était différent. On ne pouvait confondre ces bulles qu'avec les noyaux.

Les trois cas que je viens de mentionner (2 du pancréas et 1 des reins), ainsi que 14 autres cas observés par moi dans le matériel de l'Institut pathologo-anatomique (cancers du foie, des glandes mammaires, du testicule et de la matrice) présentaient des inclusions d'aspect très semblable à celui des formations que je regardais comme de vrais sporozoaires. Ces observations prouvèrent de plus que le premier cancer pancréatique étudié avait un grand intérêt, non seulement comme cas isolé de cancer contenant quantité de vrais sporozoaires, mais aussi comme point de départ dans l'explication de toutes les autres inclusions cancéreuses.

Je fixais les carcinomes frais par le liquide de Flemming et l'acide osmique. Je constatais toujours la présence de parasites. J'ai étudié jusqu'ici 18 cas semblables (cancers du foie, de la glande mammaire, glande lacrymale, matrice et lèvre inférieure).

C'est surtout dans un carcinome du foie (dans la clinique chirurgicale du professeur Rineck) que je trouvai la plus grande quantité de parasites. Le cadavre nous parvint assez frais, de sorte que l'autopsie fut faite bientôt après la mort. L'examen macroscopique démontra que le foie était complètement envahi par une quantité de nodules, surtout petits, et que

le parenchyme était réduit au *minimum*. Il n'y avait point du tout de métastases.

Les cellules cancéreuses étaient très grandes, et présentaient des figures karyokinétiques géantes et asymétriques bien marquées, de l'hypochromatisme, etc. Ces cellules contenaient des parasites tantôt isolés, tantôt multiples.

Après une coloration prolongée par la safranine, quelques préparations présentèrent des phénomènes de métachromatie et prirent une couleur violet pâle (comme dans les observations faites sur la coloration du système nerveux d'après la méthode d'Adamkiewicz). Il y avait des formes très ressemblantes aux formes rayonnées du cancer du pancréas (Pl. VII, fig. 19, 20, 28); d'autres étaient tout à fait originales (fig. 22, 23). Très souvent, on trouvait ici non seulement des formes intracellulaires, mais aussi intranucléaires (fig. 25, 26) de dimensions différentes.

Dans ce cas, les cellules cancéreuses contenant des parasites présentaient des modifications très caractéristiques; leur noyau était tantôt refoulé et contracté, tantôt agrandi (il rappelait le stade *monaster*).

Les contours cellulaires étaient irréguliers comme à l'ordinaire, mais, en outre, ils étaient munis de longs prolongements fins, dans le genre des pseudopodes. Je ne me prononce pas encore sur ce phénomène, observé par moi antérieurement (sur la lèvre inférieure). Je ne puis qu'indiquer une modification analogue de l'épithélium rénal de *Helix hortensis* sous l'influence de l'introduction de la *Klossia* (Pfeiffer, *Protozoen als Infektionserreger*, II Aufl., s. 75, 76, 77).

Tels sont les faits que j'ai observés. En les résumant, je me crois autorisé à dire que dans tous les 95 cas de cancers étudiés par moi, j'ai toujours trouvé des parasites intracellulaires de la classe des Sporozoaires.

La présence du parasite causait d'un côté une hypertrophie de la cellule et parfois une modification de son protoplasme, et d'un autre, différentes modifications du noyau, souvent dans le sens de la karyokinèse.

Ce n'est que sous forme de supposition plausible que je peux ajouter que les parasites, observés dans les divers cancers, appartiennent à des espèces différentes.

Même en laissant de côté les nombreux travaux¹ sur le cancer, travaux qui prouvent qu'on avait, sans aucun doute, affaire à de vrais parasites, nous pouvons multiplier les cas de parasitisme, observés dans les cellules cancéreuses, en nous adressant à la littérature médicale des décades précédentes. Il suffit de lire les articles de Leubuscher², W. Braum³, Erichsen⁴ et d'autres, et de voir leurs dessins pour se convaincre que ces observateurs avaient affaire à des parasites du cancer.

D'après ce que je sais, Virchow a le premier observé ces parasites, il y a quarante ans de cela. On le voit d'après les dessins exacts joints à ses articles : *Sur l'Histoire du développement du cancer*. *Archiv. de Virchow*, t. I, 1847, p. 94, et *La formation endogène des cellules dans le cancer*, *Ibid.*, t. III, 1851, p. 127. Surtout voir le T. I, Pl. II, fig. 5, et T. III, Pl. II, fig. 2 c, d, e, f, g, h, i, j; fig. 3 b, c, e; fig. 4 a, a' b, c, d, f,; fig. 6 a, b, e.

Dans un article prochain je tâcherai d'exposer mes observations sur les relations des parasites envers le protoplasme et le noyau, et sur les cellules géantes typiques, dans les néoplasies cancéreuses.

1. M. A. Kossinsky, *Contribution à l'étude des physaliphores des tumeurs cancéreuses*. *Annales de l'Université de Varsovie*, 1890, n° 7, p. 3, fig. 1, 2, 8, 9.

L. Wickham, *Contribution à l'étude des psorospermoses cutanées*. *Maladie de Paget*. 1890. Pl. II, fig. 4, 5, 6. Pl. III, fig. 12, 13.

D. Hansemann, *Ueb. asymmetrische Zelltheilung in Epithelkrebsen u. d. biologische Bedeutung*. *Vir. Arch.*, T. 119, 1890, p. 299, Pl. IX, fig. 4, 8, 17, 18.

H. Stroebe, *Zur Kenntniss verschiedener cellulärer Vorgänge und Erscheinungen in Geschwülsten*. *E. Ziegler's Beiträge*. T. XI, 1890, p. 1. Pl. I, fig. 8, 9, 13, 15, 17.

J. Steinhaus, *loco citato*, pl. XVIII, fig. 3, 13, 14, 15, 12, 18, 19, 20 et toute la planche XIX.

Foa, *Gazzeta medica di Torino*, 1891.

2. *Pathologische Bindegewebsentwicklung im Gehirn*. *Virchow's Arch.*, t. XIII, 1858, s. 494, pl. VIII, fig. 6.

3. *Zur Schleim-metamorphose der Krebses*, *Id.*, t. XVII, 1859, p. 464, pl. X, fig. 2.

4. *Zwei Fälle von Carcinosis miliaris acuta*. *Id.*, t. XXI, 1861, p. 465, Pl. VII, fig. 3.

Voir aussi les travaux sur le cylindrome, *Koester*, *Boettcher*, etc., ainsi que leurs dessins.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE V

Beaucoup de figures représentent les inclusions dans le corps cellulaire et le noyau. Toutes les figures sont prises avec l'objectif et l'oculaire 3 de Hartnack. Les fig. 4 et 26 avec l'apochromatique 2,0^{mm}, oculaire compensat. IV Hartnack.

Fig. 1, 2, 3. — Cancer de la glande mammaire. Carmin, Bleu de méthylène.

Fig. 3. — L'inclusion s'insinue dans le noyau.

Fig. 4. — Ganglion du même cas.

Le canal du vaisseau lymphatique renferme deux cellules cancéreuses avec des inclusions irrégulières. Le traitement des préparations est le même.

Fig. 5, 6. — Autre cancer de la glande mammaire. Carmin, vert iodé.

Fig. 7. — Cancer du cerveau. Capsule distincte à contenu finement et peu coloré. Elle a refoulé le noyau. Carmin, bleu de méthylène.

Fig. 8. — Cancer du testicule non descendu. Les parties foncées de l'inclusion colorées par l'hématoxyline, le centre par l'éosine.

Fig. 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17. — Cinq cas de cancer de la glande mammaire. Carmin, bleu de méthylène.

Fig. 14. — Cancer du ganglion de la poitrine. Même traitement.

Fig. 18, 19, 20. — Métastases miliaires du péritoine, accompagnant le cancer de l'estomac. Même traitement des préparations.

Fig. 21, 22. — Morceaux du foyer primitif du cas précédent. Carmin, vert iodé.

Fig. 23. — Inclusion double du cancer du duodénum. Carmin, bleu de méthylène.

Fig. 24. — Cancer du rectum. Même traitement de préparations.

Fig. 25, 26. — Inclusion du cancer de la glande mammaire. Hématoxyline-éosine.

PLANCHE VI

Fig. 1, 7, 8, 10 et 28. — Système apochromatique, 2,0^{mm}, oculaire compensat. IV. Les autres figures avec les objectifs 8 et 9 et l'oculaire 3 de Hartnack.

Fig. 1. — Coupe d'un vaisseau sanguin (?) du cancer de l'estomac. Le canal de ce vaisseau contient deux cellules cancéreuses, dont l'une renferme une inclusion et deux corpuscules sanguins. Hématoxyline-éosine.

Fig. 2. — Cellule du cancer de la glande mammaire contenant des inclusions multiples. Carmin, bleu de méthylène.

Fig. 3, 4. — Deux cellules d'une ancienne préparation du cancer du foie ; l'une contenant deux inclusions. Flemming, safranine, acide picrique.

Fig. 5, 6. — Diverses formes des parasites du 1^{er} cas du cancer du pancréas.

FIG. 7 et 8. — Deux cellules à parasites multiples. Phénomènes de « Mehrlings infection ».

FIG. 9. — Inclusion du 2^e cancer du pancréas. Hématoxyline-éosine.

FIG. 10. — Cellule avec inclusion d'une métastase du foie, accompagnant un cancer primaire du pancréas. (III^e cas). Carmin, bleu de méthylène.

FIG. 11, 12, 13, 14, 15. — Inclusion du cancer des reins. Hématoxyline-éosine.

FIG. 16. — Inclusion avec capsule épaisse d'un ancien cas de cancer primaire du foie. Carmin, bleu de méthylène.

FIG. 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28. — Inclusions du cancer primaire du foie. Flemming. Safranine.

FIG. 21, 22, 23. — Capsules à contenu multiple non coloré par la safranine. La formation semi-lunaire sur la fig. 22 est colorée par la safranine. Le contenu de la capsule sur la fig. 23 ressemble à un groupe de bacilles courts et épais, collés ensemble.

FIG. 25. — Noyau agrandi d'une cellule cancéreuse avec deux inclusions.

FIG. 26. — Inclusion intranucléaire.

FIG. 27. Cellule du cancer de la glande mammaire avec une inclusion et une figure karyokynétique. Flemming. Safranine.

FIG. 28. — Cellule avec deux corps inclus, dont le plus petit est en dehors du foyer.

PLANCHE VII

La fig. 1 est reproduite avec l'objectif 7 et l'oculaire 3. Les autres avec l'objectif 9, l'oculaire 3 de Hartnack. Acide osmique. Coloration par l'hématoxyline.

FIG. 1. — Région de métastase du foie. I^{er} cas du cancer du pancréas. Acide osmique. Dans l'angle inférieur gauche du dessin on voit un groupe d'érythrocytes jaune pâle. On voit 28 formes diverses du parasite sur la figure. La forme *a* correspond à celle de la fig. 4 représentée avec un plus fort grossissement.

La forme *b* ressemble aussi à celle de la fig. 4. Seulement les filaments sont beaucoup plus minces et l'enchevêtrement formé par eux plus épais.

FIG. 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21. — Diverses formes des parasites du 1^{er} cas du cancer du pancréas. Acide osmique, hématoxyline.

FIG. 4. — Au centre de la capsule est disposé un corps rond, de couleur olive. Il contient un noyau. Le reste de l'espace est occupé par des filaments tantôt grêles et tantôt épais entrelacés et de couleur violette.

FIG. 5. — Formation en pelotte à épingles. Les filaments sont colorés en violet, et leurs bouts renflés (spores) en violet foncé.

FIG. 19. — Cellule à infection multiple du même cas. Même traitement des préparations.

NOTE AU SUJET DU MÉMOIRE DE M. SOUDAKEWITCH

PAR M. E. METCHNIKOFF.

M. Soudakewitch a joint à son manuscrit plusieurs préparations du cas de cancer principalement étudié par lui, c'est-à-dire d'un cancer du pancréas et des ganglions lymphatiques, siège de métastases. Partout on voit toute la série de formes exactement décrites dans son mémoire. Ce sont d'abord de très petits corps ronds, nettement délimités et siégeant sûrement dans l'intérieur du protoplasma des cellules cancéreuses. Il ne peut être question ni d'invagination des cellules cancéreuses ni d'une dégénérescence des cellules dans ces corps ronds. La seule interprétation qui puisse être en harmonie avec les connaissances actuelles est celle-ci, que les corps intracellulaires sont des parasites qui se sont introduits dans l'intérieur des cellules et y ont acquis des proportions considérables. La structure de ces parasites, leur enveloppe solide, ainsi que leur contenu protoplasmique indiquent que nous avons affaire plutôt avec des Coccidies qu'avec aucun autre groupe d'organismes.

Parmi les données d'autres savants qui ont précédé M. Soudakewitch, il faut citer surtout celles de M. Foa, qui a trouvé dans un cas de cancer de la mamelle des corps ronds tout à fait semblables à ceux de M. Soudakewitch. J'appuie cette analogie sur l'examen des préparations qui m'ont été obligeamment montrées par M. Foa, et sur lesquelles on aperçoit plusieurs états du parasite rond, correspondant à ceux de M. Soudakewitch.

Mais le parasite décrit par les auteurs cités n'est point évidemment le seul qu'on trouve dans des tumeurs malignes. Depuis quelques années j'ai eu l'occasion d'examiner les préparations de M. Malassez et de ses élèves, MM. Albarran, Darier, Wickham, sur lesquelles on voit bien des parasites dans l'intérieur des cellules des néoplasies. Ce qui frappe surtout l'observateur, c'est la ressemblance frappante qui existe entre ces intrus et les jeunes stades de la coccidie du lapin, décrits

par M. Malassez ¹, ainsi que l'analogie entre la néoplasie épithéliale des canaux biliaires du lapin atteint de psorospermosse et les véritables tumeurs épithéliales. Ces deux rapprochements, appartenant à M. Malassez, ont servi de point de départ aux études sur l'étiologie des tumeurs, études entreprises par M. Malassez lui-même et ses élèves.

Les découvertes de M. Soudakewitch constituent un pas nouveau et très intéressant dans cette voie.

Une fois orientés dans la question du parasitisme dans le cancer, on pourrait tracer une sorte de programme pour les études subséquentes.

Comme dans ces tumeurs on ne trouve qu'un nombre limité de stades qui ne résument point le développement complet des coccidies, il faudrait rechercher ce que deviennent les parasites en dehors de l'organisme malade. Les parasites devraient être étudiés surtout à l'état vivant, dans leurs évolutions après l'ablation de la tumeur. L'étude des pièces durcies n'est point suffisante pour éclaircir toutes les questions principales.

Pour ce qui concerne les inoculations, il ne faudrait point perdre de vue que les coccidies sont des parasites très délicats, dont chaque espèce n'est capable de vivre que dans une espèce de cellules d'une seule espèce animale. Voilà pourquoi on ne peut pas espérer inoculer avec succès le cancer de l'homme à des animaux. D'un autre côté l'analogie des cancers avec la psorospermosse des lapins oblige d'entreprendre les inoculations non avec des pièces fraîches, mais bien avec des cancers qui ont séjourné pendant un temps plus ou moins long en dehors de l'organisme. La psorospermosse des lapins est une maladie miasmatique typique, se propageant par des spores qui se développent après la mort des lapins, dans le milieu ambiant. L'analogie avec le cancer fait présumer de même que ces néoplasies appartiennent au nombre des maladies miasmatiques, qui se répandent aussi à l'aide de spores formées en dehors de l'organisme.

Toutes ces hypothèses peuvent servir au moins comme point d'appui pour des recherches ultérieures sur cette maladie des plus importantes.

1. *Archives de médecine expérimentale*, 1891, p. 1.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

DU VENIN DE NAJA TRIPUDIANS OU COBRA CAPEL

ET EXPOSÉ D'UNE MÉTHODE DE

NEUTRALISATION DE CE VENIN DANS L'ORGANISME

PAR M. LE D^r ALBERT CALMETTE,
Médecin de 1^{re} classe du corps de santé des colonies,
Directeur de l'Institut bactériologique de Saïgon.

Un village des environs de Bac-Lieu (Cochinchine), a été assailli, au mois d'octobre 1891, à l'époque des grandes pluies, par une bande de serpents venimeux appartenant à l'espèce *Naja tripudians* ou *cobra capel*. Ces animaux, refoulés jusque dans les cases indigènes par l'inondation, ont mordu quarante individus, dont quatre, d'après ce qui nous a été rapporté, sont morts presque aussitôt. Un Annamite a pu capturer et enfermer dans un baril dix-neuf de ces cobras, et l'administrateur de l'arrondissement, M. Séville, eut l'obligeance de les adresser au laboratoire.

Quatorze d'entre eux arrivèrent encore vivants. Nous en sacrifiâmes immédiatement onze pour extirper leurs glandes à venin.

On sait que le *naja tripudians* est le serpent le plus redoutable de toutes les espèces venimeuses : sous le rapport de la puissance destructive, il dépasse de beaucoup les *crotales* et les *trigonocéphales* ou serpents *fer de lance* du nouveau monde. Dans l'Inde anglaise seule, où il est extrêmement répandu, il occasionne, d'après les rapports officiels, une mortalité de 20,000 personnes chaque année. Ses victimes sont nombreuses aussi en Birmanie, dans la péninsule malaise, à Sumatra et Java.

En Cochinchine, les Annamites le redoutent beaucoup, mais,

bien qu'il soit assez commun, on entend rarement parler d'accidents mortels occasionnés par ses morsures, du moins aux environs de Saïgon.

La variété la plus répandue dans ces parages porte sur la face supérieure de la dilatation du cou une empreinte circulaire blanche, en *monocle*, au lieu de la forme en *lunettes* qui est plus commune dans l'Inde, surtout à Ceylan. Les autres caractères zoologiques sont les mêmes, d'ailleurs, pour les deux variétés, et elles n'ont rien à s'envier l'une à l'autre, en ce qui concerne l'intensité de leur venin.

Les laboratoires d'Europe ne sont pas bien placés pour des recherches sur le venin des najas, des trigonocéphales ou des crotales. Aussi nos connaissances sur ce sujet sont-elles restreintes. Weir Mitchell et Reichard en Amérique, Wall et Armstrong en Angleterre, le professeur A. Gautier en France, ont cependant pu étudier la composition chimique de ces venins, et quelques-unes de leurs propriétés physiologiques.

M. A. Gautier a préparé, en 1881, avec des échantillons de venin authentique de trigonocéphale et de naja, deux alcaloïdes nouveaux (najine et élaphine) présentant les réactions habituelles des ptomaines, mais qui ne constituent pas la partie la plus dangereuse de ces venins : ils ne font pas succomber les animaux ; tout au plus leur donnent-ils un peu d'essoufflement ou d'hébétéude, quelquefois de la somnolence.

D'après ce savant¹, « la partie essentiellement active du venin des ophidiens est azotée, mais non alcaloïdique ; bien mieux, la composition centésimale du venin se rapproche singulièrement de celle de la partie incristallisable extractive des urines normales ».

La nature du principe actif des venins nous est donc inconnue ; mais leur mode d'action physiologique et la disposition anatomique des glandes qui les sécrètent font supposer une analogie entre eux et la salive parotidienne. Les glandes des najas représentent exactement les parotides des autres animaux, et même, à l'état normal, la salive des vertébrés supérieurs, celle de l'homme par exemple, contient des substances toxiques. M. A. Gautier en a retiré un extrait, venimeux au moins pour les oiseaux, et,

1. Séances des 12 et 19 janvier 1886, *Bulletin de l'Acad. de méd.*

d'après lui, le venin des serpents diffère de notre salive par l'intensité des effets bien plus que par sa nature intime¹.

En dehors des recherches que nous venons de citer, aucun travail d'ensemble n'a été entrepris encore, avec des matériaux d'expériences suffisants, sur la physiologie de l'envenimation par le naja, et sauf la *Thanatophidia indica* de Payrer (Londres 1872) et le mémoire lu par le même auteur à la Société médicale de Londres le 28 janvier 1884², qui résume à peu près toutes les connaissances que l'on avait acquises, à cette époque, sur le venin des serpents en général, nous n'avons pu relever, dans la bibliographie médicale, aucun document un peu complet sur ce sujet³.

Aussi ne pouvions-nous pas laisser échapper l'occasion exceptionnelle qui s'offrait d'en poursuivre l'étude, à l'aide des vingt-deux glandes venimeuses fournies par nos cobras. Nos expériences, entreprises avec la collaboration de M. le Dr Gaston Lépinay, médecin adjoint du laboratoire de bactériologie, ont porté sur 215 animaux. Nous avons cherché, malheureusement sans succès, à produire l'état réfractaire, l'immunité artificielle contre l'envenimation, en appliquant tour à tour chacune des méthodes à l'aide desquelles on a pu, récemment, créer l'immunité contre les toxines microbiennes ou contre les albumoses végétales toxiques telle que la ricine (Ehrlich). Mais, par contre, nous avons trouvé une méthode qui permet d'arrêter sûrement l'envenimation à son début, pourvu que les symptômes de paralysie bulbaire ne se soient pas encore manifestés. Cette méthode s'est montrée efficace sur les animaux de laboratoire, lapins, cobayes, singes, chiens, et bien que nous n'ayions pas eu l'occasion de l'appliquer à l'homme, nous pensons qu'elle conserverait sur lui son efficacité.

1. Les alcaloïdes dérivés des matières protéiques sous l'influence de la vie des ferments et des tissus, *Journal d'anat. et de physiol.* sept.-oct. 1881.

2. Traduit par M. le Dr Treille dans les *Archives de méd. navale*, juillet 1884.

3. En revanche les travaux sur le venin de la vipère (*Pelias berus*) commune en Europe sont nombreux. Les plus importants ont été publiés par M. Viaud Grand-Maraîs, de Nantes. On en trouvera, du reste, la bibliographie complète dans l'article *Serpents venimeux* du même auteur, dans le *Dictionnaire encyclopédique*, 3^e série t. IX.

PRÉPARATION ET CONSERVATION DU VENIN.

Les glandes à venin du naja adulte ont à peu près la grosseur et la forme d'une amande décortiquée. Le liquide qui s'en écoule lorsqu'on les comprime, est transparent, filant; mélangé à l'air, il forme des bulles très persistantes comme une émulsion de blanc d'œuf. Chaque glande en fournit à peu près trente gouttes, et nous estimons que tout l'appareil à venin d'un naja de forte taille n'en contient pas plus de trois grammes.

Les vingt-deux glandes dont nous avons pratiqué l'ablation ont été recueillies dans des cristallisoirs stérilisés et divisés en trois lots :

1^{er} lot. — Sept glandes, finement hachées, ont été trit urées dans un mortier de cristal et mélangées avec 30 grammes de glycérine à 30° Baumé, pure, puis passées à travers un tamis en fil de laiton. Le liquide tamisé a été réparti dans des tubes à essai flambés et dans des tubes à vaccin.

2^e lot. — Huit autres glandes ont été mises à macérer dans la glacière, pendant 18 heures, avec 300 grammes d'eau distillée stérilisée. Le lendemain, un quart du liquide recueilli fut mis à évaporer sous une cloche avec de l'acide sulfurique, deux autres quarts stérilisés par filtration sur une bougie Chamberland, et le dernier quart mélangé dans un ballon avec 10 grammes de phosphate de chaux en poudre. Ce phosphate fut ensuite desséché à l'étuve à 50°.

3^e lot. — Les sept dernières glandes, broyées et macérées pendant 18 heures avec 250 grammes d'eau salée à 10 0/0, furent ensuite traitées par 50 grammes d'une solution saturée de sulfate de soude et jetées sur le dialyseur. Douze heures après, on a recueilli dans des matras le liquide visqueux resté sur la membrane du dialyseur, en l'additionnant de quelques gouttes d'essence de santal afin d'éviter la putréfaction.

Ces préparations nous ont servi à pratiquer toutes nos expériences. Le produit obtenu par la trituration des glandes avec la glycérine s'est montré d'une virulence extrême. Une goutte, placée sous la peau, suffit pour donner la mort en moins d'une heure aux petits animaux, rats, pigeons, et en un peu plus

de temps, mais d'une manière tout aussi fatale, aux poules et aux lapins.

Le venin ainsi préparé ne s'altère pas et conserve probablement très longtemps toute sa virulence, pourvu qu'il soit maintenu dans l'obscurité.

Celui que nous avons obtenu par l'évaporation sous cloche, au moyen de l'acide sulfurique, présente l'aspect de petites lamelles écailleuses jaune-brun. Une trace de ce venin desséché, triturée avec un peu d'eau distillée et inoculée dans le muscle pectoral d'une poule, la tue rapidement.

La solution aqueuse filtrée sous pression de quatre atmosphères au filtre Chamberland, est aussi virulente après qu'avant la filtration. Bien que cette préparation représente seulement une dilution de venin à environ 2 0/0, il suffit d'en injecter 3 gouttes à un pigeon pour lui donner la mort en 10 minutes environ. Le lapin en supporte quelquefois 1/8 de centimètre cube, mais en injection intraveineuse, deux gouttes le tuent sûrement.

PHYSIOLOGIE DE L'ENVENIMATION.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer les phénomènes de l'envénimation chez l'homme, à la suite des morsures de cobras, mais ils ont été décrits maintes fois par les médecins anglais et français de l'Inde et par les missionnaires.

La piqure du serpent n'est pas très douloureuse, paraît-il; elle est surtout caractérisée par l'engourdissement qui survient dans la partie mor due, se propage rapidement dans tout le corps et produit des syncopes, des défaillances; la bouche se contracte, devient baveuse, la langue se gonfle, les dents se resserrent, puis le malheureux blessé tombe dans le coma le plus profond et expire en quelques heures¹.

La morsure du cobra n'est pas toujours mortelle. Les statistiques donnent des chiffres très variables à cet égard. D'après celles de Fayrer et de Desaint, la léthalité moyenne des individus mordus serait de 25 à 35 0/0; d'après Huillet, elle attein-

¹ A. C. DESAINT, missionnaire de l'Inde, *Manuel de médecine*, Compiègne 1876, et Sir J. FAYRER, *Thanatophidia indica*.

drait 45 0/0. Le pronostic dépend évidemment surtout de la quantité de venin inoculée et de sa plus ou moins grande virulence, suivant que le serpent qui l'a fourni était à l'état de jeûne ou venait de mordre une proie.

S'il est introduit dans une région très vasculaire, ou directement dans une veine, il tue presque fatalement. Au contraire, si le derme est à peine entamé, ou si les vêtements ont pu exercer une action protectrice, l'absorption du venin deviendra presque nulle. On se retrouve ici en présence des mêmes facteurs de gravité que pour les morsures faites à l'homme par des animaux atteints de rage.

L'expérience permet d'éliminer tous ces facteurs, de suivre chez un animal inoculé toute la série des phénomènes de l'envenimation et d'en graduer l'intensité. Nous avons étudié à ce point de vue toutes les espèces d'animaux qu'il est possible d'utiliser dans un laboratoire. Seuls le cobra, et un autre serpent colubriforme non venimeux que nous avons pu nous procurer, se sont montrés réfractaires à l'envenimation.

Les mammifères, singes, chiens, lapins, cobayes et rats succombent plus ou moins rapidement suivant la dose inoculée. Il est impossible de calculer avec quelque précision la dose mortelle pour chaque animal : elle est impondérable, puisque une seule goutte de la macération de huit glandes dans 300 grammes d'eau distillée, introduite dans la veine de l'oreille d'un lapin, le tue en cinq minutes !

Toutefois, par l'inoculation sous-dermique d'une petite quantité de venin glycérimé à l'avant-bras d'un singe de moyenne taille par exemple, on peut étudier les troubles morbides qui se succèdent alors assez lentement.

Le premier signe apparent de l'absorption du poison est une sorte de lassitude générale, puis les paupières se ferment à demi ; l'animal semble chercher un endroit favorable pour se reposer ; il se relève aussitôt, marche avec des saccades ; ses membres ont de la peine à le supporter. Bientôt, il est pris de nausées, de vomissements et d'anxiété respiratoire ; il appuie sa tête sur le sol, la redresse en cherchant à aspirer l'air, porte ses mains à sa bouche, comme pour arracher un corps étranger du pharynx. Il vacille sur ses membres et se couche sur le côté, la face contre le sol. Le ptosis s'accroît et l'asphyxie complète

survient bientôt. Le cœur continue à battre cinq minutes au moins après que la respiration a cessé, puis il s'arrête en diastole.

La rigidité cadavérique survient très rapidement et persiste longtemps même après le début de la putréfaction. Pendant les derniers moments de la vie, la pupille reste très impressionnable; l'animal conserve intacte la sensibilité à la douleur et l'ouïe. L'excitabilité électrique des muscles de la face persiste, mais celle des membres et des muscles du tronc est presque totalement abolie. L'application de courants volta-faradiques de la nuque au diaphragme ne provoque aucun mouvement respiratoire lorsque l'asphyxie commence à se manifester. Les sphincters de la vessie et de l'anus se relâchent après quelques spasmes qui provoquent fréquemment, chez les mâles, l'éjaculation du sperme. L'urine et les fèces s'échappent ensuite.

Les oiseaux présentent à peu près la même succession de phénomènes, mais, chez eux, la période asphyxique est beaucoup plus longue, probablement à cause des réserves d'air accumulées dans leurs sacs aériens et leurs canaux osseux. Ils bâillent comme des pigeons qu'on étouffe, reposent la pointe de leur bec sur le plancher des cages, et ont fréquemment des spasmes convulsifs du pharynx accompagnés de battements d'ailes.

Les petits oiseaux et même les pigeons meurent très rapidement sous l'influence de doses infinitésimales de venin. La poule est plus résistante.

Les grenouilles, grâce à leur respiration cutanée, succombent très lentement. Nous en avons vu survivre pendant trente heures à l'inoculation de la quantité de venin qui tue le lapin par injection sous-cutanée en dix minutes. Le crapaud meurt plus vite. Les lézards et les caméléons sont très sensibles au venin.

Les poissons ne sont pas réfractaires à son action: nous avons expérimenté sur deux spécimens de ces *poissons de combat* que les Annamites élèvent dans des aquariums pour assister à leurs luttes et engager sur elles des paris. Ils ont succombé 5 heures seulement après l'inoculation intramusculaire d'une dose mortelle pour le pigeon en 20 minutes.

Les invertébrés eux-mêmes, — du moins les sangsues, — sont tués par l'inoculation d'une très minime quantité de venin.

Le serpent semble donc la seule espèce animale réfractaire : Fontana, Weir Mitchell et Viaud Grand-Maraïs avaient déjà constaté le même fait pour les vipériens et les crotales. Nous avons inoculé impunément une dose considérable de venin pur glyciné (6 gouttes) sous la peau d'un petit serpent colubriforme non venimeux, long de 35 centimètres et de la grosseur du doigt auriculaire.

Nous avons aussi injecté à un cobra environ 10 gouttes du même venin pur glyciné, à l'aide d'une canule de seringue hypodermique soudée à un tube de verre. L'aiguille, enfoncée dans la chair du serpent, y est restée à demeure. L'animal n'a paru nullement incommodé.

Je ne veux pas prétendre expliquer les divers phénomènes de l'envenimation par des théories basées sur la physiologie pathologique des centres nerveux, mais il est bien évident que l'action toxique du venin se manifeste par des phénomènes bulbaires. Le ptosis, symptôme de début, surtout apparent chez le singe, indique l'atteinte de la substance grise du plancher du 4^e ventricule et des noyaux d'origine des nerfs moteurs oculaires communs. La paralysie bulbaire progresse ensuite rapidement, et, lorsqu'elle a frappé les noyaux d'origine des nerfs pneumo-gastriques, l'animal meurt en état d'asphyxie.

Le venin est charrié jusqu'au bulbe par le sang. Les nerfs périphériques ne semblent pas gênés par son contact immédiat. Si, après avoir dénudé le nerf sciatique d'une grenouille, on dépose sur ce nerf, isolé des tissus environnants, une goutte de venin pur glyciné, l'animal ne manifeste aucune douleur; le nerf n'en conserve pas moins son irritabilité, ainsi qu'il est facile de s'en assurer en le touchant avec une aiguille.

Nous avons sectionné la moelle épinière de deux grenouilles au-dessous du bulbe, et nous les avons inoculées à la cuisse, en même temps qu'une troisième grenouille témoin, avec 0^{cc},25 de venin dialysé. L'une des premières et la grenouille témoin sont mortes au bout de 26 heures. La troisième, plus vigoureuse, a vécu 30 heures.

Si, mettant à nu les deux sacs pulmonaires d'une grenouille, on dépose à la surface de l'un une goutte de venin pur, on voit immédiatement la coloration du réseau capillaire des alvéoles

devenir rouge foncé, et, au bout d'un très court instant, le sac s'affaisse sur lui-même comme une vessie qui se vide, tandis que l'autre reste dilaté.

Le venin porté directement à l'aide d'une pipette capillaire dans le tissu musculaire ou dans les cavités du cœur, ne modifie pas la régularité des contractions de cet organe, jusqu'à ce que l'intoxication bulbo-médullaire ait eu le temps de se produire.

Mélangé au sang, il n'altère ni la forme ni la couleur des globules, jusqu'après la mort de l'animal. Je n'ai pas vu dans les globules ces petits corps ovoïdes, brillants, qu'a signalés Lacerda. J'ai examiné des préparations de sang frais de pigeon avant et pendant l'envenimation, sans pouvoir saisir, sous le microscope, le moindre changement dans les hématies.

Après l'arrêt du cœur, la coagulation survient très vite ; tout le sang contenu dans les cavités se prend en masse homogène offrant l'aspect de la gelée de cassis.

La rapidité d'absorption du venin chez les animaux inoculés est incroyable, même lorsqu'il est simplement déposé sous la peau. Nous avons fait plusieurs expériences sur des rats dans le but de la mesurer, mais sans pouvoir y parvenir avec précision :

Exp. I. — Un rat (n° 1) est inoculé au dernier tiers de la queue avec une goutte de venin pur glyceriné, au moyen d'une pipette de verre effilée. *Cinq minutes après*, on lui coupe la queue au premier tiers. L'animal succombe au bout d'une heure.

Un rat n° 2, témoin, inoculé avec la même dose de venin et auquel la queue n'a pas été sectionnée, meurt en 40 minutes.

Exp. II. — Un rat n° 3 est inoculé au dernier tiers de la queue avec une goutte de venin pur. *Une minute après*, la queue est sectionnée au tiers supérieur. Mort au bout de quatre heures vingt minutes.

Le venin est donc très diffusible : c'est ce qui explique l'inefficacité presque absolue des traitements locaux les plus énergiques des morsures des serpents. Ni les larges incisions, ni la cautérisation au fer rouge, ni les injections de permanganate de potasse, ni la ligature du membre mordu ne suffisent à enrayer l'absorption du poison : tout au plus ces moyens la retardent-ils un peu. C'est déjà un résultat utile, il est vrai, car il pourra permettre d'intervenir à temps pour neutraliser le venin déjà entré dans la circulation générale.

VOIES D'INTRODUCTION DU VENIN.

Les différentes voies par lesquelles le venin peut être introduit dans l'organisme des animaux ne sont pas toutes également propices à son absorption. La plus dangereuse est l'*intraveineuse*.

On peut tuer un lapin adulte en moins de cinq minutes en lui introduisant, dans la veine marginale de l'oreille, une seule goutte de la préparation glycinée dont nous avons fait usage.

L'inoculation *sous-cutanée*, sauf pour les petits animaux, ne tue pas toujours à cette dose, mais deux gouttes font succomber sûrement les lapins et les poules, dans un délai maximum de huit heures.

Les *séreuses* absorbent lentement le venin : l'inoculation intrapéritonéale produit beaucoup plus tardivement l'envenimation à quantité égale de substance toxique. Nous possédons même un cobaye qui a résisté à l'inoculation d'un dixième de centimètre cube de venin dialysé dans le péritoine, alors que son témoin, inoculé sous la peau, mourut en trois heures.

Le foie nous paraît susceptible d'arrêter le venin dans une certaine proportion, comme il arrête une partie des alcaloïdes végétaux toxiques qui le traversent.

Nous avons fait, à cet égard, l'expérience suivante :

EXP. III. — Le 13 novembre, un lapin adulte pesant 2 k. 400 est laparotomisé à 9 h. 10 du matin. On lui injecte, dans la veine mésentérique, 4 gouttes de venin dialysé pur, et l'abdomen est ensuite suturé avec les précautions antiseptiques d'usage.

Pendant toute la journée, l'animal est resté couché sur le flanc, ne mangeant pas. Le lendemain matin, il était debout, et la guérison de sa plaie abdominale s'est parfaitement opérée sans autre incident.

Sur la *muqueuse conjonctivale*, le venin amène une inflammation très intense, comparable à celle du jequirity. Toutefois, cette propriété irritative se perd lorsqu'on chauffe le venin à 90°, et pourtant sa puissance toxique est à peine amoindrie.

EXP. IV. — Un lapin adulte reçoit le 6 novembre sur la conjonctive de l'œil droit, sans lésion préalable, 1 goutte de venin pur glyciné. Cinq minutes après, l'œil est tout œdématié, rouge, larmoyant. Le lendemain, la conjonctive est vivement enflammée; il s'est formé des petites ulcérations

phlycténulaires sur la cornée, et l'humeur aqueuse de la chambre antérieure est devenue trouble.

La guérison spontanée s'est effectuée en dix jours, mais la cornée reste opaque et dépolie. Pas d'accidents ultérieurs.

Exp. V. — Un lapin adulte reçoit le 11 novembre, sur la cornée de l'œil droit, 4 gouttes de venin chauffé à $+ 90^{\circ}$. Pas d'inflammation. Trois gouttes de ce venin, injectées sous la peau, tuent pourtant un pigeon en 55 minutes.

L'inoculation dans la *trachée* est mortelle.

Dans l'*intestin*, par la voie rectale, le venin n'exerce aucune action irritative : nous avons injecté dans le gros intestin d'un cobaye mâle, à l'aide d'une sonde, jusqu'à 5^{cc} de venin dialysé, pur, sans produire le moindre accident.

L'*ingestion* n'offre également aucun danger réel, à moins qu'il n'existe une lésion de la muqueuse pharyngienne ou gastrique. Fayrer a soutenu une thèse opposée : il prétend que la succion des morsures de cobra offre des dangers. Nos expériences contredisent cette assertion :

Exp. VI. — Un cobaye adulte mâle a ingéré biquotidiennement, du 6 au 14 novembre, des doses croissantes de venin pur glyciné, en commençant par 5 gouttes le matin et autant le soir. Le 13 novembre ce cobaye a ingéré 26 gouttes de venin dans sa journée, sans accident.

Il a succombé le 14 à une injection hypodermique de 0^{cc},25 de venin dialysé, faite dans le but de constater si le traitement par ingestion avait produit l'immunité.

Exp. VII. — Une poule adulte a ingéré, du 6 au 14 novembre, des doses progressives et biquotidiennes de 2 à 12 gouttes de venin pur glyciné, sans accident.

Exp. VIII. — Deux pigeons ont ingéré, à partir du 6 novembre, des doses progressives et biquotidiennes de 2 à 8 gouttes de venin pur glyciné. L'un des pigeons a succombé le 7. Le second continue jusqu'au 9 son traitement, sans accident ultérieur. Il est probable qu'une petite quantité de venin, chez le pigeon qui a succombé, a pénétré dans la trachée pendant l'ingestion.

Exp. IX. — L'inoculation de deux gouttes de venin, pratiquée dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin, a provoqué immédiatement une inflammation très intense, et l'animal a succombé au bout de cinq heures.

Exp. X. — Un autre lapin, inoculé par trépanation, sous la dure-mère, avec la même dose, est mort en une heure quarante minutes.

Ainsi, nous pouvons conclure de ces expériences que le venin mis en contact avec les muqueuses saines, sauf la muqueuse trachéo-bronchique, ne produit pas d'accidents mortels ;

qu'il s'absorbe plus lentement par le réseau lymphatique des séreuses que par les vaisseaux capillaires sous-cutanés, et qu'il peut-être arrêté en partie par la glande hépatique.

DE LA NON-TRANSMISSIBILITÉ DE L'ENVENIMATION PAR LE SANG.

Lacerda au Brésil et Fayrer aux Indes disent avoir constaté que le sang d'un animal tué par le venin est lui-même venimeux, et que, si on l'injecte à un autre animal, il produit rapidement les mêmes effets. Fayrer aurait ainsi transmis le venin à une série de trois animaux avec un résultat fatal.

Ici encore les résultats de nos expériences sont en contradiction formelle avec les faits annoncés par ces médecins. Nous les avons contrôlés plusieurs fois avec le plus grand soin. Nous n'avons jamais pu réussir à tuer un animal par l'inoculation, même à haute dose, du sang ou de l'émulsion des organes d'un animal de même espèce ou d'espèce différente, tué par le venin de cobra. M. Viaud Grand-Maraïs a toujours obtenu le même résultat négatif par l'inoculation du sang d'animaux morts d'empoisonnement par les vipères. Pour lui, le venin se détruit dans le sang en modifiant sa composition chimique.

L'erreur de Lacerda et de Fayrer doit tenir à ce que ces auteurs ont peut-être expérimenté avec du sang sortant de la plaie venimeuse.

Exp. XI. — Un pigeon reçoit sous la peau du thorax 1^{re} du sang du cœur d'un lapin qui vient d'expirer à la suite de l'inoculation de 3 gouttes de venin dialysé, dans la veine de l'oreille. Il n'éprouve aucun symptôme de malaise.

Exp. XII. — Un pigeon reçoit sous la peau 1^{re} du sang du cœur d'un pigeon tué par 3 gouttes de venin pur glycérimé. Résiste, sans malaise apparent.

Exp. XIII. — Un rat reçoit sous la peau 4^{re} du sang recueilli dans le cœur d'un autre rat inoculé avec 3 gouttes de venin glycérimé pur. Ce sang a été aspiré dans le ventricule droit avant que le cœur ait cessé de battre. Résiste.

Exp. XIV. — Un cobaye reçoit dans le péritoine toute la rate (triturée dans de l'eau stérilisée) d'un rat tué par six gouttes de venin glycérimé. Résiste.

Exp. XV. — Un cobaye reçoit, dans le péritoine, tout le foie trituré du même rat. Résiste.

Exp. XVI. — Un lapin reçoit sous la peau 10^{cc} d'une émulsion du cerveau et du bulbe d'un lapin tué par l'inoculation de 3 gouttes de venin pur glycérimé. Pas d'accident.

PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DU VENIN.

Le venin du cobra est parfaitement neutre au papier de tournesol. Il se dissout très facilement dans l'eau et dans l'alcool étendu.

L'alcool fort, l'éther, l'ammoniaque, le tannin et l'iode le précipitent, mais le précipité formé se redissout dans l'eau. Ses réactions chimiques sont identiques à celles des échidnines étudiées par Weir Mitchell : il est donc superflu d'en répéter la description.

Nous avons observé qu'il n'adhère pas aux précipités de phosphate de chaux, contrairement à ce qui se produit pour les toxines de la diphtérie et du tétanos. On peut insérer, sous la peau d'un pigeon, une quantité considérable de ce précipité lavé, puis desséché, sans développer le moindre accident.

Traité par le chlorure de sodium à 10 0/0, puis par la solution saturée de sulfate de soude, le venin ne forme aucun précipité apparent. Jeté sur le dialyseur, il se débarrasse du chlorure de sodium et du sulfate de soude, puis dialyse lui-même, mais faiblement. Pour produire l'envenimation avec le liquide dialysé après douze heures, il faut en injecter 1^{cc} au pigeon. Au contraire, le liquide albumineux resté sur la membrane tue cet animal à la dose de trois à cinq gouttes, mais plus lentement qu'avec la même quantité de solution aqueuse pure filtrée au filtre Chamberland.

L'action de la *chaleur* fait perdre beaucoup plus difficilement ses propriétés virulentes au venin de cobra qu'aux toxines microbiennes ou qu'aux diastases en général. On peut le chauffer impunément jusqu'à + 90° pendant une heure sans lui faire perdre son activité. Les effets sont seulement un peu plus tardifs.

Un chauffage d'une demi-heure à + 97° au bain-marie laisse encore subsister la virulence, mais si la température monte à + 98° pendant au moins dix minutes, celle-ci est détruite.

Nous avons injecté, dans la veine de l'oreille d'un lapin, 5^{cc} de venin dialysé, chauffé une demi-heure à + 98°, sans produire d'autre accident qu'un peu de somnolence et de dyspnée passagère.

Donc la virulence du venin est détruite exactement entre $+ 97$ et $+ 98^{\circ}$, et ne résiste pas à une ébullition prolongée, comme l'ont écrit quelques auteurs.

Nous avons chauffé du venin à l'autoclave à $+ 100^{\circ}$ et à $+ 120^{\circ}$ pendant $\frac{1}{4}$ d'heure, et jamais l'injection de ces liquides chauffés n'a développé le moindre symptôme d'envenimation chez les animaux, même à doses très élevées et répétées deux fois par jour pendant une semaine.

Le chauffage régulier à l'étuve à $+ 38^{\circ}$, prolongé pendant 15 jours, n'altère pas la virulence. Au contraire, l'exposition à la lumière solaire, en tubes clos, privés d'air, la détruit assez rapidement : deux pigeons inoculés chacun dans le muscle pectoral avec 1^{cc} d'abord, puis avec 2^{cc} de venin dialysé, exposé pendant deux semaines au soleil, ont résisté, alors que les pigeons témoins, inoculés avec $\frac{1}{4}$ de centimètre cube du même venin conservé à l'obscurité, succombaient en 15 minutes.

ACTION DES ANTISEPTIQUES ET DE DIVERSES SUBSTANCES CHIMIQUES.

Nous avons borné nos recherches à l'essai des substances qu'il est possible d'introduire sous la peau des animaux sans développer des lésions ou des accidents de toxicité. Toutes nos expériences ont été dirigées d'une manière uniforme :

1^o Nous avons mélangé d'avance une dose mortelle de venin avec la substance à essayer, puis nous avons injecté ce mélange à des animaux ;

2^o Nous avons ensuite inoculé le venin pur aux animaux, puis, autour de la plaie d'inoculation, la substance à essayer.

L'acide phénique, le bichlorure de mercure au $\frac{1}{1,000}$ en solution acide, le sulfate de cuivre, l'eau naphtholée, le nitrate d'argent à 10/0 ne détruisent pas la virulence du venin et ne retardent même pas l'apparition des symptômes d'envenimation, lorsque ces antiseptiques sont injectés sous la peau en même temps que le venin.

Il en est de même du chlorure de sodium, du carbonate et du sulfate de soude, de l'iodure de potassium, de l'iode, de l'alcool, du chloroforme et de l'éther.

Nous n'avons pas été plus heureux avec les essences de santal, de romarin, de girofle, de citron.

L'ammoniaque, même dans la proportion de 1 gramme pour 1 goutte de venin glyciné, nous a donné un résultat absolument négatif. Beaucoup de ces corps, particulièrement l'iode, l'ammoniaque, les essences, l'éther, l'alcool, le chloroforme, le sulfate de cuivre, le nitrate d'argent et le bichlorure de mercure, forment avec le venin des précipités, mais ceux-ci sont solubles dans l'eau ou dans un excès de réactif, et aussi virulents que le venin pur.

Le *permanganate de potasse*, actuellement considéré comme le meilleur *neutralisant* du venin d'ophidiens, depuis les travaux de Lacerda, forme avec le venin du naja un coagulum albumineux, noir, insoluble dans l'eau. Avec le même venin chauffé à $+80^{\circ}$ et dépouillé de son albumine par filtration, le précipité prend un aspect poussiéreux, brunâtre.

Nous l'avons expérimenté sur des pigeons, des poules, des lapins, des cobayes et des rats, en faisant usage d'une solution au centième stérilisée.

Les animaux auxquels nous avons injecté une partie de venin mélangée préalablement avec dix parties de la solution de permanganate au centième ont tous résisté, alors que les témoins inoculés avec les mêmes quantités de venin pur sont tous morts.

Si l'on pratique, à un animal un peu résistant, comme le lapin ou la poule, une injection intra-musculaire de venin à dose mortelle, et aussitôt après une injection de permanganate de potasse *dans le trajet même de la première inoculation*, l'animal ne succombe presque jamais.

Cependant si l'on tarde, ne fût-ce qu'un très court instant, à porter le permanganate dans le trou où se trouve déposé le venin, l'envenimation se produit. Les petits animaux, chez lesquels l'absorption est presque immédiate, succombent toujours malgré le permanganate.

Exp. XVII. — Pigeon adulte reçoit le 3 novembre, en injection dans le pectoral, 2 gouttes de venin pur glyciné, mélangé avec 1^{cc} de permanganate de potasse à 1 0/0. Résiste.

Le 8, il succombe à l'inoculation de 3 gouttes de venin chauffé à 97° .

Exp. XVIII. — Poule adulte reçoit sous la peau, le 5 novembre,

5 gouttes de venin glyciné dilué dans 1^{cc} de permanganate de potasse à 1 0/0. Résiste.

Le 10, elle succombe à l'inoculation de 1^{cc} de venin dialysé, chauffé à + 97°.

Exp. XIX. — Lapin adulte reçoit sous la peau, le 3 novembre, 4 gouttes de venin glyciné, mélangées à 2^{cc} de permanganate à 1 0/0. Même inoculation répétée le 6 matin et soir, et le 7 au matin. Succombe le 10 à l'inoculation de 1^{cc} de venin chauffé à + 97°, sans injection consécutive de permanganate.

Exp. XX. — Lapin adulte reçoit sous la peau, le 3 novembre, 0^{cc},5 de venin dialysé et, aussitôt, au même point, 2^{cc} 1/2 de solution de permanganate à 1 0/0. Résiste.

Exp. XXI. — Un rat reçoit sous la peau du ventre 2 gouttes de venin glyciné, et aussitôt, au même point, 1^{cc} de permanganate de potasse. Le rat succombe au bout d'une heure et demie.

Exp. XXII. — Une poule adulte reçoit, dans le muscle pectoral droit, 3 gouttes de venin glyciné pur, et, aussitôt, dans le pectoral gauche, 1^{cc} de permanganate à 1 0/0. Succombe 1 h. 35 après l'inoculation.

Les lapins supportent très bien l'injection *intraveineuse* de 2^{cc} de la solution de permanganate à 1 0/0, mais cette injection, suivant immédiatement l'inoculation du venin sous la peau, ne les empêche pas de succomber :

Exp. XXIII. — Lapin adulte reçoit sous la peau 5 gouttes de venin glyciné et, aussitôt après, en injection *intraveineuse*, 2^{cc} de la solution à 1 0/0 de permanganate. Mort 45 minutes après l'inoculation.

Un lapin témoin reçoit en injection intraveineuse 2^{cc} de la solution de permanganate, sans venin.

Résiste après une courte période de tremblements et d'agitation.

Nous avons fait deux autres expériences qui démontrent l'impuissance du permanganate à neutraliser le venin lorsque celui-ci a déjà imprégné les tissus voisins du point d'inoculation :

Exp. XXIV. — Le 10 novembre à 8 h. 50 matin, un lapin adulte reçoit à la patte postérieure droite 2 gouttes de venin glyciné sous la peau, à l'aide d'une pipette, et sans qu'il se produise la moindre effusion de sang.

A 5 centimètres au-dessus du point d'inoculation, on place aussitôt une ligature élastique bien serrée.

Dix minutes après, on injecte, dans la profondeur des tissus, au point d'inoculation et tout autour, 2^{cc} de solution de permanganate de potasse à 1 0/0. Le lien constricteur est enlevé une heure après. Gonflement considérable de la patte. Le lendemain, toute la journée, l'animal paraît malade. Il ne mange pas. Mort le 12, après-midi.

Exp. XXV. — Le 12 novembre, à 8 heures de matin, un lapin adulte reçoit,

dans une petite plaie saignante faite au ciseau, à la patte droite postérieure, 2 gouttes de venin glyciné.

Ligature élastique immédiate à 3 centimètres au-dessus du point d'inoculation. Dix minutes après, injections interstitielles de 2^{cc} de permanganate au 10/0 tout autour de la petite plaie et au-dessus, mais non dans la plaie. Mort à 9 h. 40, soit moins de 2 heures après l'inoculation.

Le permanganate reste donc inactif lorsque le venin a pénétré dans les tissus. Mais il en arrête l'effet lorsqu'il est injecté dans la plaie en même temps ou aussitôt après l'inoculation venimeuse : il peut alors en empêcher l'effet.

NEUTRALISATION DU VENIN ET TRAITEMENT DES MORSURES VENIMEUSES
PAR LES INJECTIONS INTERSTITIELLES DE SOLUTION DE CHLORURE D'OR
PUR A 1 0/0.

La plupart des alcaloïdes physiologiques des tissus animaux possédant la propriété de former avec le chlorure de platine et le chlorure d'or des sels cristallisables, nous avons voulu étudier l'action de ces corps sur le venin. Le chlorure de platine en solution au centième produit un précipité gélatineux blanc qui, introduit sous la peau, est très vite absorbé et tue l'animal aussi promptement que le venin pur.

Le chlorure d'or, au contraire, donne un précipité d'aspect semblable mais insoluble. Le mélange de cette substance, même en proportion très faible, avec le venin, enlève à celui-ci toute sa toxicité : il se produit là une réaction comparable à celle de l'albumine d'œuf en présence des sels mercuriques. On peut en injecter des quantités considérables sous la peau, dans les muscles ou dans les cavités séreuses comme le péritoine, sans que le moindre accident apparaisse.

Les tissus fraîchement imprégnés d'une solution faible de chlorure d'or sont rendus incapables d'absorber le venin.

Exp. XXVI. — Un pigeon adulte reçoit dans le muscle pectoral trois gouttes de venin glyciné diluées dans 1^{cc} de solution de chlorure d'or au 1/500. Résiste.

Un pigeon témoin succombe en 5 minutes avec la même dose de venin pur.

Exp. XXVII. — Une poule reçoit 4 gouttes de venin glyciné diluées dans 1^{cc} de solution de chlorure d'or à 1/500. Résiste.

Une poule témoin succombe 4 h. 40 après l'injection.

Exp. XXVIII. — Un pigeon reçoit sous la peau et dans le pectoral 0^{cc},5 de venin dialysé mélangé à 1^{cc} 1/2 de solution d'or à 1/100. Résiste.

Exp. XXIX. — Un lapin adulte pesant 1^k,840 reçoit sous la peau 0^{cc},25 de venin dialysé et, immédiatement après, en injection intraveineuse, 2^{cc} de solution de chlorure d'or à 1/500. Résiste.

Un lapin témoin qui a reçu la même quantité de venin et pas de chlorure d'or meurt 3 heures 1/2 après l'inoculation.

La même expérience est renouvelée sur un autre lapin avec 0^{cc},5 de venin dialysé sous la peau du ventre et 2^{cc},5 de solution d'or à 1/500 en injection intraveineuse.

Ce lapin a succombé seulement au bout de cinq heures.

Exp. XXX. — Lapin adulte reçoit sous la peau 4 gouttes de venin dialysé, le 14 novembre, et aussitôt après 2^{cc} de solution d'or à 1/500 en injection intraveineuse. Résiste.

Le 15 au soir, nouvelle inoculation sous-cutanée de 0^{cc},25 du même venin, et, aussitôt après, injection sous-cutanée de 2^{cc} de solution d'or. L'animal reste bien portant à la date du 5 décembre.

Exp. XXXI. — Pigeon adulte reçoit, dans le muscle pectoral, 0^{cc},25 de venin dialysé, et aussitôt après, tout autour du point inoculé, une injection de 2^{cc} de chlorure d'or à 1/500. Mort une heure après.

Exp. XXXII. — Un cobaye reçoit sous la peau 0^{cc},25 de venin dialysé, et autour de la piqûre 3^{cc} de la solution d'or à 1/100. Résiste.

Exp. XXXIII. — Lapin adulte reçoit 0^{cc},75 de venin dialysé sous la peau du ventre, et tout autour, une injection sous-cutanée de 5^{cc} de solution d'or à 1/100. Résiste. Un lapin témoin, inoculé avec la même dose de venin, meurt au bout de 55 minutes.

Exp. XXXIV. — Poule reçoit 0^{cc},25 de venin dialysé en injection intramusculaire, et aussitôt après, tout autour, 3^{cc} de solution d'or à 1/100. Résiste.

Exp. XXXV. — Lapin reçoit sous la peau 0^{cc},75 de venin dialysé et aussitôt après, en injections multiples, 5^{cc} de solution d'or à 1/100. Résiste.

Exp. XXXVI. — Poule inoculée dans la cuisse droite avec 5 gouttes de venin glyciné, et, un peu plus haut, puis dans le muscle pectoral, elle reçoit 5^{cc} de solution de chlorure d'or pur à 1/100. Résiste. Une poule témoin meurt au bout de 1 h. 25.

Exp. XXXVII. — Deux lapins reçoivent sous la peau de la patte postérieure droite, 5 gouttes de venin glyciné, et aussitôt après, à la racine du membre et dans le tissu cellulaire du cou, sans ligature préalable, 5^{cc} de solution d'or à 1/100. Résistent tous deux. Un lapin témoin meurt 1 h. 45 après l'inoculation.

Exp. XXXVIII. — Un lapin pesant 1^k,870, traité du 4 au 18 novembre par des injections à doses progressivement croissantes de venins chauffés, puis virulents, reçoit le 18 novembre sous la peau, 0^{cc},75 de venin dialysé pur, et aussitôt après, tout autour de cette injection, 5^{cc} de solution d'or à 1/100. Pas d'accident. Le lapin est encore en bonne santé le 5 décembre. Un autre lapin, pesant 1^k,880, traité du 14 au 17 novembre par les mêmes injections de venins chauffés et virulents, a reçu le 17, 0^{cc},25 seulement du

même venin dialysé pur, sans chlorure d'or ensuite. Il a succombé deux heures après.

Exp. XXXIX. — Chien adulte de petite race à poils longs (poids 3^k,200), reçoit le 21 novembre, à 3 h. 15, sous le ventre, en injection hypodermique, 1^{cc},5 de venin dialysé pur, et aussitôt après, dans la partie supérieure du cou et du thorax, 9^{cc} de la solution d'or à 1/100. Résiste. Est encore en bonne santé le 5 décembre. Un chien témoin un peu plus gros, à poils ras, pesant 5^k, a reçu en même temps 1^{cc},5 du même venin sans chlorure d'or. Il a succombé à 5 h. 1/2 du soir.

Exp. XL. — Poule reçoit le 14 novembre, à 3 heures du soir, en 4 injections, 2^{cc} de solution d'or à 1/500 sous la peau et dans le muscle pectoral. Le 15, à 9 heures du matin, 0^{cc},25 de venin dialysé et, aussitôt après, 2^{cc} de la même solution d'or *autour* du point d'inoculation. Le 15 au soir, la poule est très malade. Bâillements continuels, somnolence. Nouvelle injection intramusculaire de 2^{cc} chlorure d'or à 1/500. Le 16 au matin, la poule va mieux; elle mange et commence à se tenir debout sur ses pattes. Guérison complète.

Exp. XLI. — Cobaye adulte mâle reçoit, à 3 heures du soir le 14, 2^{cc} de solution d'or à 1/500 dans le péritoine et 1^{cc} sous la peau. Le 16 au matin, inoculation sous-cutanée de 0^{cc},25 de venin dialysé et, aussitôt après, tout autour, 3^{cc} de solution d'or à 1/100. Résiste.

Exp. XLII. — Pigeon reçoit à 3 heures du soir une injection de 3^{cc} de solution d'or à 1/100 dans le muscle pectoral. Le 17 au matin, exactement au même point, injection de 0^{cc},25 de venin dialysé sans nouvelle dose de chlorure d'or. Résiste. Pigeon témoin succombe au bout de 45 minutes.

Exp. XLIII. — Poule reçoit le 18 novembre une injection intramusculaire de 3^{cc} de solution d'or sans venin dans le thorax, à 8 heures du matin. Le soir du même jour, injection de 0^{cc},25 de venin dialysé, dans la cuisse droite. Morte le 19 à 10 heures du matin.

Exp. XLIV. — Poule adulte reçoit le 16 novembre, dans la matinée, 2^{cc} de solution d'or dans un des pectoraux; une heure après, 0^{cc},125 de venin dialysé pur dans l'autre muscle pectoral.

Le soir, la poule est très malade. Impossibilité de tenir sur ses pattes, somnolence et perte absolue d'appétit, bâillements. Elle reçoit de nouveau 2^{cc} de solution d'or à $\frac{1}{100}$. Le 17 au matin, même injection renouvelée, la poule étant encore malade. Mieux sensible dans la soirée. Le lendemain, la poule est guérie. Elle est encore en bonne santé à la date du 5 décembre.

Nous avons constaté que pour empêcher ou arrêter l'envenimation chez les animaux un peu résistants comme le lapin, la poule, le singe et le chien, il n'est pas nécessaire d'injecter le chlorure d'or dans la plaie par laquelle le venin a été introduit: si l'on intervient avant l'apparition des premiers symptômes morbides, des injections interstitielles disséminées, à une distance même considérable du point d'inoculation, suffisent à préserver sûrement l'animal.

Ainsi, nous avons inoculé des doses mortelles de venin à des lapins sous la peau de la patte postérieure, et à des poules dans les muscles de la cuisse, puis nous avons injecté le chlorure d'or dans le tissu cellulaire sous-cutané du cou et du thorax chez le lapin, ou dans le muscle pectoral chez les poules : ces animaux ont résisté.

De même, nous rapprochant des conditions qui se réalisent le plus habituellement pour l'homme, nous avons appliqué une ligature élastique à la racine du membre envenimé, puis quelques minutes plus tard, nous avons imprégné de chlorure d'or les tissus au-dessus de la ligature, sans toucher à la plaie. L'envenimation ne s'est pas produite.

Nous avons varié nos expériences autant que pouvaient le permettre les ressources matérielles dont nous disposons, et nous avons toujours été conduits à la démonstration de ce fait que le chlorure d'or, introduit en suffisante quantité dans les tissus d'un animal inoculé avec une dose mortelle de venin de cobra, même en dehors du point d'inoculation de ce venin, empêche l'intoxication de l'animal, pourvu que l'on interviene avant que des symptômes d'asphyxie bulbaire se soient manifestés.

Dix gouttes d'une solution à 1/100 de chlorure d'or suffisent à détruire entièrement l'activité toxique d'une goutte du venin glycéринé dont nous avons fait usage.

Mais, comme le chlorure d'or ne possède pas la puissance de diffusibilité du venin, il est indispensable d'en introduire la plus grande quantité possible dans les tissus.

L'injection intraveineuse n'est pas pratique : elle est mal supportée à cause de la causticité légère du sel d'or même dilué au 1/500. Cependant nous possédons un lapin qui a supporté sans accident l'introduction, dans la veine marginale de l'oreille, de 2^{cc} de solution d'or à 1/500.

L'injection dans les séreuses s'est montrée inoffensive dans nos expériences, mais elle peut avoir des inconvénients pour l'homme, et puisque l'injection intracellulaire ou intramusculaire suffit, nous croyons préférable de la conseiller exclusivement.

Nous injectons de 5 à 10^{cc} de solution à 1/100 aux lapins, aux singes, aux chiens et même aux poules sans provoquer d'accidents. Ces quantités sont très suffisantes pour neutraliser une dose de venin mortelle en moins d'une heure. Nous pensons qu'elles

seraient également suffisantes pour l'homme, car un naja ne peut guère déverser dans les plaies faites par ses deux crochets, plus de 4 à 6 gouttes de venin, et il suffit de 10 milligrammes d'or réellement absorbé pour précipiter cette quantité de substance toxique.

Néanmoins, la solution d'or occasionnant tout au plus un peu de douleur par suite de sa faible action caustique, on peut en introduire dans les tissus des quantités considérables sans inconvénients graves, si elle est bien stérilisée. Pour éviter la rougeur, l'œdème et la formation de plaques escharotiques, il serait avantageux de multiplier les piqûres, comme nous l'avons fait sur nos animaux, et d'injecter seulement une petite quantité de la solution dans chacune d'elles.

Avec cette méthode nous n'avons jamais produit d'abcès ni d'inflammation vive.

Le traitement n'est pas applicable aux petits animaux comme les rats, les moineaux; l'absorption du venin est chez eux tellement rapide que toute intervention est absolument inutile. Il est très difficile aussi de préserver les cobayes, et encore davantage les pigeons, à moins de leur injecter une grande quantité de solution d'or avant l'inoculation venimeuse.

La solution simple dans l'eau distillée nous a très bien réussi. La solution dans l'éther sulfurique, que nous avons employée dans l'espoir d'obtenir, grâce à l'éther, une plus rapide diffusion du sel d'or dans les tissus, nous a donné des succès et des insuccès, ces derniers probablement dus à la sensibilité extrême des animaux à l'éther, et, par suite, à l'impossibilité de leur injecter une quantité suffisante de sel d'or.

Chez l'homme, le choix de cet excipient n'offrirait pas les mêmes dangers. Nous n'oserions cependant pas en conseiller l'emploi, car il est possible que la présence de l'éther gêne la précipitation du venin par le sel d'or.

EXP. XLV. — Lapin adulte reçoit 0^{cc},45 de venin dialysé sous la peau et, au bout de quelques minutes, injection de 5^{cc} de chlorure d'or à $\frac{1}{500}$. Résiste.

EXP. XLVI. — Singe pesant 2 k. 400 reçoit sous la peau du ventre 1^{cc} de venin dialysé, et, 5 minutes après, 5^{cc} de chlorure d'or en plusieurs injections disséminées. Meurt au bout de deux heures.

EXP. XLVII. — Lapin inoculé à la patte droite le 19 novembre, à 9 h. 15 du matin, avec 6 gouttes de venin glyciné. La plaie saigne. Ligature élastique presque immédiate. 6 minutes après, injection hypodermique de 5^{cc} de soul-

tion d'or à 1 0/0 dans la patte et sous la peau du ventre. La ligature est enlevée 1/2 heure après. Mort à 1 heure du soir. Un lapin témoin, de même taille, reçoit à la patte droite, à 9 h. 1/2, 6 gouttes du même venin, sans ligature ni chlorure d'or. Mort à 10 h. 15 minutes.

Exp. XLVIII. — Cobaye inoculé sous la peau du ventre avec 1/2^{cc} de venin dialysé. *Vingt minutes après*, injection sous-cutanée de 5^{cc} de chlorure d'or à 1 0/0. Mort au bout de 3 heures seulement.

Exp. XLIX. — Lapin inoculé à la patte antérieure droite avec 5 gouttes de venin glycérimé pur. Ligature élastique. Injection, 6 minutes après, de 9^{cc} de solution d'or à 1 0/0 dans le tissu cellulaire du cou et dans la cuisse postérieure droite. Résiste.

Exp. L. — Singe adulte reçoit sous la peau de la cuisse droite 6 gouttes de venin glycérimé pur. Pas de ligature. Cinq minutes après, injection hypodermique de 8^{cc} de chlorure d'or dans l'aîne, dans la fesse et sous la peau du thorax. Résiste.

Exp. LI. — Cobaye reçoit 5 gouttes de venin glycérimé sous la peau du ventre. Quelques instants après, 5^{cc} de solution d'or autour du point d'inoculation. Mort 4 heures après. Un cobaye témoin, inoculé avec la même dose de venin, succombe au bout d'une heure et demie.

Exp. LII. — Poule adulte, traitée du 6 au 14 novembre par des injections à dose progressives de venin chauffé, puis virulent. Reçoit le 14 novembre au soir, en injection intramusculaire, 1/4^{cc} de venin dialysé. Le 15 au matin, la poule est trouvée très malade : elle est couchée sur le ventre, somnolente, bâille comme si elle asphyxiait, ne mange pas et repose fréquemment la pointe de son bec sur le plancher de la cage. On lui injecte sous la peau des cuisses et dans les pectoraux 8^{cc} de solution de chlorure d'or à 1 0/0 ; mieux sensible le soir. Elle est toujours couchée, mais ne bâille plus et mange volontiers un peu de riz qu'on lui présente.

Le 16, la poule est tout à fait guérie et debout sur ses pattes.

Le 17, à 9 h. 20 du matin, nouvelle injection intramusculaire de 1/4^{cc} du même venin dialysé sans chlorure d'or (même dose que le 14). La poule meurt à 11 heures.

TENTATIVES POUR PRODUIRE L'IMMUNITÉ ARTIFICIELLE CONTRE L'ENVENIMATION.

Nous avons essayé de produire, chez des animaux, l'immunité artificielle contre l'envenimation, soit en leur pratiquant des inoculations successives de venin chauffé, puis de doses croissantes de venin virulent, soit en leur injectant du venin virulent mélangé à du permanganate de potasse ou à du chlorure d'or, soit enfin en leur faisant ingérer, pendant dix jours consécutifs, des doses progressivement croissantes de venin virulent.

Aucune de ces tentatives n'a été couronnée de succès. Nous avons seulement réussi à produire, par les inoculations succes-

sives de venins chauffés, un état de résistance à des doses mortelles pour les animaux non préparés : ce n'est point là une immunité, même partielle. Il s'agit plutôt d'une sorte de mithridatisme, d'accoutumance à des doses faibles de poison, comparable à celle qui s'acquiert par l'usage prolongé de poisons végétaux comme l'opium, ou minéraux comme l'arsenic.

EXP. LIII. — Un lapin adulte, pesant 1^k,880, reçoit en injection sous-cutanée, du 4 au 9 novembre, 20^{cc} de venin dialysé chauffé à + 120°, par doses quotidiennes de 4^{cc}. Le 10, il reçoit 3^{cc} du même venin chauffé à + 98° (limite de la non-virulence). Le 11, il supporte sans accident 1/4^{cc} de venin à + 97°, dose mortelle pour le pigeon.

Le 12 et le 13, il résiste à deux inoculations successives de 1/4^{cc} de venin chauffé à + 90°, dose mortelle pour la poule. Le 14 et le 15, il supporte, avec un léger malaise, deux inoculations de 1/4^{cc} de venin dialysé non chauffé. Cette dose tue en 4 et 6 heures les lapins non préparés. Le 17, après un jour de repos, il reçoit 1/2^{cc} du même venin non chauffé, et *succombe 2 heures après*.

EXP. LIV. — La même expérience que ci-dessus est renouvelée sur un lapin adulte pesant 1^k,870. On s'arrête, le 14 novembre, à la dose de 1/4^{cc} de venin dialysé non chauffé. L'animal est encore bien portant à la date du 5 décembre.

Une poule et deux cobayes, traités en même temps, ont supporté sans malaise apparent la dose de 1/8^{cc} de venin dialysé, mortelle pour les autres animaux de même espèce non préparés. Mais l'inoculation de doses plus considérables les a fait succomber.

CONCLUSIONS

En résumé, l'étude expérimentale que nous avons faite du venin de cobra nous conduit à conclure :

1° Qu'il est possible de guérir les animaux de l'envenimation en neutralisant le venin absorbé par le sang à l'aide d'injections sous-cutanées de chlorure d'or ;

2° Que tous les agents chimiques préconisés jusqu'ici contre les morsures de serpents venimeux, en particulier l'ammoniaque, l'iode, le nitrate d'argent, etc., ne peuvent exercer aucune action curative. Le permanganate de potasse détruit l'activité du venin qui reste dans la morsure, mais il est impuissant à arrêter les effets de celui qui est déjà absorbé.

Le traitement rationnel des morsures de cobras, et peut-être des autres serpents venimeux, devra donc être exclusivement basé sur l'application des propriétés du chlorure d'or.

On devra toujours s'opposer, autant que possible, à l'absorption du venin en interrompant la circulation veineuse entre la morsure et le cœur, à l'aide d'une ligature élastique.

On injectera ensuite dans la plaie elle-même et tout autour, à l'aide d'une seringue à injections hypodermiques, 8 à 10^{cc} d'une solution de chlorure d'or à 1 0/0 stérilisée, — mais chaque injection ne devra pas dépasser un centimètre cube de liquide, pour ne pas exercer d'action caustique trop vive sur les tissus.

D'autres injections semblables seront pratiquées vers la racine du membre, au niveau et en deçà de la ligature élastique. Ces injections peuvent être faites dans toutes les parties du corps, soit dans le tissu cellulaire sous-cutané, soit dans l'épaisseur des muscles. Elles ne produisent pas d'escarres ni d'abcès, si la solution d'ordont il est fait usage est titrée à 1 0/0 au maximum, stérilisée et conservée dans un flacon de verre jaune ou noir pour éviter sa décomposition sous l'influence des rayons solaires.

La ligature élastique peut être enlevée sans inconvénient aussitôt que les injections auront été effectuées.

Ce traitement, appliqué à l'homme, donnera vraisemblablement les mêmes résultats heureux que nous avons obtenus par l'expérimentation sur les animaux. Il est aussi probable que son efficacité s'étendra aux morsures de tous les serpents venimeux, puisque les diverses échidnines (vipérine, crotaline, najine ou élaphine, etc.) ne présentent entre elles que des différences légères d'action physiologique, et tous les auteurs qui ont entrepris des recherches sur le venin des ophidiens exotiques sont d'accord pour affirmer que celui du cobra est le plus actif.

Les symptômes d'envenimation par les morsures de certains vipéridés comme le *Daboia* de l'Inde, d'après Fayrer et Wall, n'ont cependant pas tout à fait les mêmes caractères que ceux produits par les morsures des serpents colubriformes (naja, trigonocéphale, crotale). Le venin des *Daboia* provoque des convulsions précoces, détruit moins vite la fonction respiratoire, et empêche la coagulabilité du sang après la mort, tandis que le venin des najas ne fait que la modifier.

Quoi qu'il en soit de ces divergences vraiment peu considérables, les effets locaux et généraux de tous les venins sont à peu près identiques, et ne diffèrent que par l'intensité; il est rationnel de penser que le chlorure d'or devra les neutraliser également.

QUELQUES FAITS RELATIFS

A LA

MÉTHODE DE COLORATION DE LUSTGARTEN

PAR M. R. SABOURAUD, INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS.

Travail du laboratoire de M. le D^r Tapret, à l'hôpital Saint-Antoine.

I

MÉTHODE DE COLORATION ET BACILLE DE LUSTGARTEN.

Au cours de recherches bactériologiques sur la syphilis, j'ai dû vérifier les méthodes préconisées pour la coloration d'un microbe spécifique et celle de Lustgarten en particulier. C'est en effet celle qui offrait le plus de garanties d'authenticité et celle qui a eu le plus de retentissement.

Rappelons d'abord le manuel opératoire que Lustgarten a indiqué :

1° Les coupes de productions syphilitiques ou les lamelles enduites de l'exsudat spécifique du chancre sont portées, pendant 24 heures à froid et 2 heures à 60° environ, dans un bain colorant ainsi composé :

| | |
|--|-------------|
| Solution alcoolique saturée de violet gentiane | 11 parties. |
| Eau d'aniline | 70 — |

2° La coloration est suivie d'un lavage de 10 minutes dans l'alcool absolu.

3° Puis la préparation est soumise pendant dix secondes à l'action du permanganate de potasse en solution à 1 1/2 0/0.

4° Et enfin à la décoloration par l'acide sulfureux en solution aqueuse, concentrée et *fraîche*.

Il faut recommencer cette double décoloration autant de fois qu'il sera nécessaire pour qu'elle soit complète. (*Lustgarten*.)

Je dois dire d'abord que la décoloration par l'alcool absolu pendant dix minutes suffit à rendre inutile toute décoloration ultérieure, car elle est complète si la coupe du tissu est assez fine.

Quoi qu'il en soit, j'ai pratiqué cette méthode sur *cinquante et une* pièces de syphilis, et le résultat a toujours été négatif.

Ces pièces ont compris, sauf la roséole, toute la série des lésions ordinaires et indiscutables de la maladie : le chancre initial de tous sièges, les papules et les plaques muqueuses, les ulcères de la syphilis maligne précoce, les gommès, les syphilides serpiginieuses tertiaires, etc.

Les fragments de tissu ont été prélevés sur le vivant ou à l'autopsie, ils ont été fixés par l'alcool ou le bichromate. Toutes les conditions de l'expérience ont été variées : le colorant et le temps d'immersion dans le colorant, le chauffage qui a été porté jusqu'à 130°, la durée elle-même du chauffage, l'alcool de lavage qui a été supprimé, ou dont l'action a été diminuée par la saturation du même colorant, le titre des solutions de permanganate et d'acide sulfureux, le temps de leur action. Jamais je n'ai rencontré le bacille de Lustgarten ni aucun bacille qui lui ressemblât.

Sans doute des faits négatifs, même très nombreux, prouvent moins qu'un fait positif bien observé, aussi je ne puis tirer des expériences que j'ai faites d'autre conclusion que celle-ci :

Même en admettant pour vraie la découverte de Lustgarten, on ne peut reproduire à volonté les résultats qu'il a obtenus — en se servant des procédés qu'il a donnés.

Et sans discuter le bien fondé des affirmations positives sur ce sujet, une méthode sûre pour déceler le microbe de la syphilis est encore à découvrir.

II

MÉTHODE DE LUSTGARTEN APPLIQUÉE A LA COLORATION DU BACILLE TUBERCULEUX.

Parmi les lésions qui ont été examinées au point de vue bactériologique, l'une a été pour moi l'occasion d'une méprise qui pourrait expliquer peut-être les affirmations de Lustgarten.

Comme les circonstances dans lesquelles cette méprise s'est produite ajoutent à l'intérêt qu'elle présente, nous donnerons brièvement l'observation du malade qui en fut l'objet.

En juin 1891, se présenta dans un service de l'hôpital Saint-Antoine, un homme porteur d'une tumeur de la grosseur

du poing siégeant sur la dixième côte. La tumeur, légèrement conique, portait en son centre une ulcération cratériforme ronde contenant un énorme bourbillon nécrosé en voie d'élimination. Le diagnostic de gomme syphilitique fut porté, et le traitement spécifique interne institué. En quinze jours la tumeur diminua des trois quarts et le bourbillon nécrosé s'élimina.

C'est dans cette période que le pus de cette gomme, recueilli par moi et examiné, à la fois comme du pus tuberculeux par la méthode d'Ehrlich, et comme du pus syphilitique par la méthode de Lustgarten, me montra, par cette dernière méthode seulement, des bacilles peu nombreux mais absolument évidents, isolés ou en chaîne.

En présence des caractères formels de la lésion, et la méthode de coloration tuberculeuse d'Ehrlich étant d'ailleurs restée quatre fois sans résultat, je demeurai convaincu que j'avais retrouvé le bacille de Lustgarten, et dans une lésion syphilitique. — Cette lésion fut soumise successivement au diagnostic de trois médecins des hôpitaux dont l'avis fut unanime. Son aspect était assez caractéristique pour que la photographie en fût prise comme un témoignage de sa nature.

Au bout de trois semaines l'ulcère parut en telle voie d'amélioration que le malade fut congédié, et ce fut dans l'intention de voir la lésion guérie par le seul traitement interne que je fis entrer le malade dans le service de M. le Dr Tapret dont j'étais alors l'interne.

Or, malgré la continuation du traitement, l'ulcération ne se détergea pas complètement et demeura stationnaire. Dans le doute je recommençai indéfiniment l'examen microbien du pus, après décoloration à l'acide nitrique au 1/3. Et en même temps j'inoculai un cobaye.

Le neuvième examen me montra des bacilles colorés malgré la décoloration acide — et le cobaye mourut tuberculeux.

Dans tous mes examens antérieurs de produits syphilitiques, comme dans celui-là, j'avais pris d'extrêmes précautions pour ne pas être trompé sur la nature spécifique des lésions, et malgré ces précautions, j'y ai été trompé une fois. Est-ce que la même erreur ne serait pas arrivée à Lustgarten? Et par exemple la nature de cette tumeur du deltoïde qu'il examina avec Weigert et qui fourmillait de bacilles, lui était-elle bien prouvée? Il ne

parle pas d'inoculations négatives au cobaye, et un examen par les seules réactions colorantes ne suffit pas, nous venons de le voir, à trancher absolument la question.

Du reste, ce double examen bacillaire me donnait un résultat qui valait la peine d'être repris.

L'examen par la méthode de Lustgarten montrait toujours des bacilles (sauf dans une préparation sur quinze) et l'examen par la méthode d'Ehrlich avait échoué 8 fois sur 10. — J'ai déjà dit que les bacilles étaient fort rares : les plus riches préparations n'en contenaient pas une vingtaine.

En contrôlant ces résultats, je me suis assuré plusieurs fois que la méthode de Lustgarten, bien maniée, car elle est un peu délicate, est d'une extrême sensibilité pour le bacille tuberculeux.

Pareillement et dans un cas où les bacilles étaient aussi fort rares — dans une pérityphlite tuberculeuse de diagnostic *clinique* impossible, c'est par cette méthode que j'ai réussi à prouver l'existence du bacille, contrôlée ensuite par les réactifs ordinaires.

Et non seulement la méthode de Lustgarten est bonne pour déceler le bacille dans des tissus où il est rare, mais aussi pour le mettre en évidence dans certains parenchymes organiques comme celui du foie par exemple, où la fuchsine phéniquée de Ziel et la décoloration nitrique donnent de si médiocres résultats.

En résumé la méthode de Lustgarten qui, pour ne pas dire plus, est au moins *très infidèle* dans la recherche du microbe de la syphilis, est une très fine méthode pour déceler le bacille tuberculeux. Elle mériterait donc de prendre rang parmi les procédés usuels de colorations bactériennes, et du reste, il est facile de la simplifier beaucoup sans l'altérer en rien.

Pour la recherche du bacille tuberculeux, dix ou quinze minutes au plus d'immersion dans le colorant suffisent quand la coloration est faite à chaud.

Rien n'est plus simple que cette coloration quand il s'agit d'une lamelle enduite d'exsudat. Quand il s'agit d'une coupe, je la colle d'abord sur une lame porte-objet ou sur une lamelle, au moyen de caoutchouc dissous dans le xylol, ou d'eau albuminée légèrement phéniquée. On évite ainsi la difficulté d'avoir à étendre après la coloration une coupe que le chauffage a pelotonnée sur elle-même.

Une deuxième simplification vise la préparation de la solution *fraîche* d'acide sulfureux.

On prend une pipette Miquel à moitié remplie d'eau stérile et on la fixe sur un support métallique de laboratoire. A chacune de ses extrémités on monte un tube de caoutchouc : celui qui

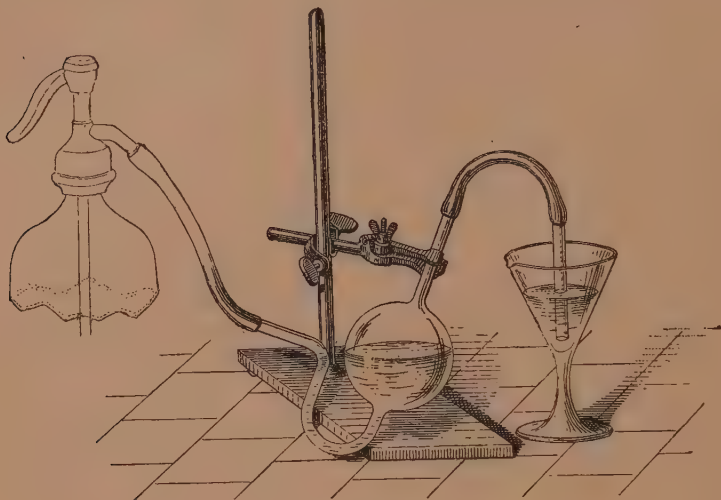


Fig. 1.

part de l'extrémité effilée relie la pipette à un de ces siphons d'acide sulfureux liquide qu'on trouve dans le commerce. — Celui qui part de l'extrémité supérieure plonge dans un vase rempli d'eau et sert à éviter tout dégagement de gaz.

On appuie sur la pédale du siphon et l'on fait barboter le gaz dans l'eau de la pipette qui s'en trouve saturée en quelques minutes. Rien n'est plus facile même, au moyen d'une simple ficelle et d'une pince hémostatique, que de maintenir automatiquement le débit du courant gazeux.

On peut donc préparer sur-le-champ, sur sa table, la solution sulfureuse fraîche et concentrée exigée par Lustgarten. La pipette mobile sur son support métallique devient un véritable flacon compte-gouttes et il suffit d'imprimer du doigt une modification à sa position pour provoquer ou suspendre l'écoulement du liquide qu'elle contient.

Ainsi réglée la méthode de Lustgarten n'est plus qu'une

méthode semblable à celle de Gram, avec ces différences que la solution iodo-iodurée est remplacée par une solution de permanganate et l'alcool ou l'huile d'aniline par la solution sulfureuse.

III

UN NOUVEAU PROCÉDÉ DE COLORATION DE LA FIBRINE.

En poursuivant mes recherches sur ces sujets et pensant que Lustgarten avait peut-être obtenu des résultats par un hasard de préparation, j'ai été amené à renforcer l'action colorante par un mordantage préalable du tissu. Et ayant observé que quelques mordants employés dans l'industrie, tels que le phosphate et le silicate de soude, le carbonate de potasse, l'émétique, avaient sur les tissus animaux des élections spéciales, j'ai étudié à ce point de vue une vingtaine de mordants usités en teinturerie.

Par hasard j'ai rencontré ainsi un procédé de coloration de la fibrine qui me semble supérieur à celui que Weigert a proposé. Le voici :

Qu'on prenne par exemple un fragment de chancre d'un centimètre de long sur trois millimètres dans ses deux autres dimensions, qu'on aura préalablement fixé par le liquide de Muller. Qu'on le laisse passer 15 ou 20 heures dans une solution de tannin au $\frac{1}{200}$, légèrement alcoolisée (10^{cc} d'alcool pour eau = 200). Si l'on fait ensuite subir à la préparation la coloration au violet aniliné d'Ehrlich suivie de la décoloration de Gram Weigert, en remplaçant dans la décoloration l'huile d'aniline par l'essence de girofles, on verra un feutrage fibrineux occuper la surface ulcérée du chancre, et de ce feutrage émaner un réseau extraordinairement fin et net, intercellulaire, descendant jusqu'aux limites de la néoplasie pour s'y perdre en prenant l'aspect d'une multitude de fins cheveux coupés.

L'élection fibrineuse est assez forte pour supporter une double coloration à l'éosine ou la safranine. On peut ainsi obtenir des préparations d'une grande netteté et d'un aspect intéressant.

Nous mentionnons ce fait qui n'a pas une extrême importance mais qui peut être susceptible d'extension. Si les mordants ont des élections, pourquoi ne pas chercher à les utiliser dans les recherches microbiennes, soit incorporés à des liqueurs colorantes, soit mieux, séparément pour des mordantages préalables?

RECHERCHES

SUR LA

SYMBIOSE DES ALGUES ET DES PROTOZOAIRES

PAR FÉLIX LE DANTEC.

La présence de la chlorophylle dans les tissus de certains animaux a été constatée il y a fort longtemps; depuis une dizaine d'années seulement a été émise et discutée l'idée que cette chlorophylle, dans un grand nombre de cas, n'appartient pas en propre aux cellules animales, mais bien à des végétaux parfaitement distincts, vivant en hôtes bienfaisants à l'intérieur de leur protoplasma.

Les partisans de la théorie de l'individualité propre des corpuscules verts qui existent dans quelques Infusoires ciliés, les Spongilles, les Hydres, etc., se sont principalement appliqués à répondre aux deux questions suivantes: (a). Peut-on reconnaître dans ces corpuscules verts les caractères distinctifs d'une cellule végétale complète? — (b). Ces corpuscules verts sont-ils susceptibles de vivre et de se multiplier en dehors du protoplasma des animaux dans lesquels nous les trouvons?

(a). A peu près en même temps, C. Brandt¹ et Geza-Entz², qui les premiers ont considéré ces corpuscules verts comme des algues unicellulaires ayant une existence propre, ont décrit à leur intérieur un noyau et des grains d'amidon. Geza-Entz a également attribué à ces corpuscules une membrane d'aspect

1. C. BRANDT, Ueber das Zusammenleben von Thieren u. Algen. *Sitzb. der ges. naturf. Freunde*. Berlin, 1881. — Ueber die morphol. u. physiol. Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren. *Arch. f. anat. u. phys.* (Abth. I. phys.), 1882. — *Id.* 2^e article. *Mittheil. a. d. Zoolog. Station zu Neapel*, 1883.

2. GEZA-ENTZ, Ueber die natur des Chlorophyll Körperchen niederer Thiere. *Biol. Centr.*, 1882.

gélatineux, dans laquelle Brandt dit avoir reconnu chimiquement la présence de cellulose. Cette substance est aussi donnée par Dangeard ¹ comme existant dans la membrane des corpuscules verts du vorticellien appelé *Ophrydium versatile*.

Beyerinck ² et Famintzin ³ s'accordent à considérer les corpuscules verts comme des algues qu'ils rapprochent avec Brandt des Protococcacées sous le nom de *Zoochlorelles*. Famintzin a mis hors de doute l'existence d'un noyau dans ces corpuscules par l'hématoxyline ou le carmin employés dans des conditions bien déterminées ; il a démontré par plusieurs procédés l'existence de la membrane gélatineuse d'enveloppe, mais n'a pas trouvé de cellulose dans cette membrane. Il a décrit comme accidentel chez la Zoochlorelle un point rouge qui n'est pas décoloré par l'alcool absolu, et comme constant un chromatophore, déjà signalé par Brandt, et qui se multiplie par division en même temps que la Zoochlorelle.

Lankaster ⁴ a été le plus sérieux adversaire de la théorie de l'individualité des corpuscules verts. Déjà avant les travaux de Brandt et Geza-Entz, il les avait assimilés aux leucites chlorophylliens des végétaux. Son argument morphologique le plus important pour nier leur individualité était qu'il n'avait pas pu trouver de noyau à leur intérieur. Les procédés de coloration employés par Brandt et Famintzin ont réduit cette objection à néant. Il en reste une autre, moins fondamentale, purement physiologique. Geza-Entz et Brandt avaient considéré les zoochlorelles comme devant, à la lumière, se charger d'hydrocarbures par assimilation chlorophyllienne, et en fournir une partie à leur hôte. Or, Lankaster, et en ceci Famintzin est d'accord avec lui, n'a pas trouvé d'amidon dans les Zoochlorelles, et en a découvert au contraire à leur extérieur dans les cellules amiboïdes de la Spongille ; cet amidon existait concurremment avec des matières albuminoïdes dans des vacuoles de ces cellules ;

1. DANGEARD, Étude sur l'Ophrydium versatile. *Botaniste*, 1890.

2. BEYERINCK, Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen Algen. *Bot. Zeitung*, 1890.

3. FAMINTZIN, Beitrag zur Symbiose von Algen und Thieren. *Mem. Ac. Imp. Sc. Petersbourg*, t. XXXVIII, 1891.

4. LANKASTER, The mode of occurrence of Chlorophyll in Spongilla. *Quart. Journ.*, 1874. — Chlorophyll in Turbellarian Worms and other Animals. *Quart. Journ.*, 1879. — On the chlorophyll-corpuscles and amyloid deposits of Spongilla and Hydra. *Quart. Journ.*, 1882.

il provenait probablement de l'extérieur, peut-être de proies animales qui en étaient préalablement chargées, comme ces *Chilomonas Paramœcium* que Famintzin a vu ingérer en grande abondance par des infusoires verts. Dans tous les cas, cette observation n'infirme en rien l'hypothèse de l'individualité des Zoochlorelles, et restreint seulement le rôle que l'on peut accorder à ces êtres dans la symbiose avec les cellules animales.

(b) Déjà en 1863, Balbiani, plus tard Geza-Entz et Brandt, ont observé que les corpuscules verts se multiplient par division à l'intérieur des Infusoires. Trompé par ce fait que plusieurs êtres peuvent rester vivants un temps plus ou moins long dans les vacuoles d'ingestion des Protozoaires, Geza-Entz a dit que les corpuscules verts mis en liberté par l'écrasement d'un Infusoire continuent de vivre sous les formes les plus variées (*Palmella*, *Tetraspora*, etc...). Brandt affirme seulement que les Zoochlorelles ainsi mises en liberté continuent de vivre et produisent à la lumière des grains d'amidon.

Beyerinck a découvert une algue vivant librement et ressemblant beaucoup aux Zoochlorelles ; il l'a appelée *Chlorella vulgaris*. Elle se cultive très bien sur la gélatine peptonisée additionnée de sucre ou d'extrait de malt concentré. Après avoir dit d'abord qu'il n'a jamais pu obtenir de culture des Zoochlorelles sur ce milieu, cet auteur ajoute brièvement et sans donner de détails, à la fin de son mémoire, qu'il a, dans les derniers temps, réussi à cultiver abondamment sur gélatine les Chlorelles de l'Hydre, et que cette culture lui a permis de constater une identité certaine des dites algues avec les *Chlorella vulgaris*.

Famintzin donne des détails bien plus précis. Un individu de *Paramœcium Bursaria*, isolé dans une goutte stérilisée de l'eau de son aquarium, est écrasé entre un porte-objet et un couvre-objet. Les Zoochlorelles mises en liberté adhèrent au verre avec assez de ténacité pour qu'un léger courant liquide produit entre les deux lames ne les déplace pas. Ceci permet de suivre longuement au microscope l'une d'entre elles bien déterminée. L'auteur fait pénétrer sous le couvre-objet une couche liquide, fréquemment renouvelée, d'une solution contenant pour 100 parties d'eau distillée, une partie de phosphate acide de potasse et une partie de sulfate d'ammoniaque. En opérant ainsi on voit les Zoochlorelles se diviser en 4 ; chacun des produits de la division atteint

à peu près la dimension normale des Zoochlorelles, et se divise de nouveau.

Le même auteur est arrivé à un résultat semblable avec les Zoochlorelles du *Stentor polymorphus*, en tuant ces Protozoaires avec une solution de soude et ajoutant à la préparation, faite comme précédemment, un peu de gélose ou un peu de silice gélatineuse pour éviter le déplacement des algues dans le liquide. L'individualité des corpuscules verts est démontrée par ces expériences, qui montrent la possibilité de leur multiplication dans un liquide purement inorganique.

Dans quelles conditions ces Zoochlorelles se mettent-elles en symbiose avec les Infusoires, c'est cette question que je me propose d'élucider dans ce travail, et les faits que je vais exposer donneront une nouvelle preuve de l'individualité des corpuscules verts.

Dans deux réservoirs distincts, j'ai conservé longtemps deux infusions renfermant en grande quantité des Ciliés d'une même espèce *Paramæcium Bursaria*. Quoique ces deux réservoirs fussent tous deux, depuis le début de mes observations, dans les mêmes conditions de température et d'éclairement, les Paramécies de l'un deux étaient toutes hyalines¹, celles de l'autre presque toutes vertes. Ce fait qui serait assez étonnant si la chlorophylle de ces Infusoires était une production de leur propre substance, s'explique très facilement si l'on admet l'individualité des corpuscules verts.

En réunissant dans un même tube des portions à peu près égales des deux infusions précédentes, j'ai constaté qu'au bout de quelques jours les Paramécies hyalines étaient devenues presque introuvables dans ce troisième réservoir; ce résultat pouvait tenir soit à la supériorité des Paramécies vertes dans la lutte pour l'existence, soit à la nature contagieuse pour ces Infusoires de la propriété d'être vertes. Une expérience très simple m'a permis de m'assurer que la deuxième de ces hypo-

1. Une eau contenant des *Paramæcium Bursaria*, toutes hyalines, est une chose très rare dans la nature; j'ai recueilli celle dont je parle ici dans une mare remplie d'algues vertes, située sur le plateau qui domine la grève de Vimereux. Il m'a semblé intéressant de remarquer que le Vimereux, qui coule à peu de distance de cette mare, contient des Paramécies presque toutes infectées de Zoochlorelles.

thèses est vraie (sans que pour cela je puisse affirmer que la première ne l'est pas).

Dans une goutte d'eau filtrée de la première de mes infusions, j'ai écrasé des Paramécies vertes débarrassées autant que possible des substances étrangères par des passages successifs dans de l'eau filtrée ; puis j'ai introduit une Paramécie incolore dans cette goutte que j'ai suspendue sous un couvre-objet, sur un porte-objet creusé, c'est-à-dire dans une chambre humide. En opérant ainsi, j'avais à peu près complètement éloigné de l'Infusoire hyalin toute nourriture autre que les débris de ses congénères verts.

J'ai fait un très grand nombre de fois des préparations de ce genre et dans quelques-unes d'entre elles j'ai vu que la Paramécie, incolore au début, était, au bout de quelques jours, porteuse d'un certain nombre de Zoochlorelles. La question de la supériorité pour la lutte des individus verts étant naturellement éliminée dans ce cas, il était bien évident qu'il y avait contagion de la propriété d'être vert.

La préparation que je viens de décrire est facile à faire et très peu fatigante à observer puisqu'il suffit d'y jeter un coup d'œil rapide tous les jours ; mais elle ne donne pas toujours de résultat ; quelquefois la Paramécie meurt avant d'avoir été porteuse d'une seule Zoochlorelle. Si, au lieu d'abandonner cette préparation à elle-même, on la suit au microscope sans perdre de vue l'Infusoire, l'observation est bien plus fastidieuse, mais donne quelquefois un renseignement nouveau. Souvent, en effet, j'ai vu par ce moyen l'ingestion d'une Zoochlorelle par l'infusoire incolore, et je me suis assuré que, plusieurs heures après, cette Zoochlorelle était encore verte. Contrairement à ce qui se passe pour une Protococcacée ordinaire, elle n'était pas digérée. En conservant la préparation, je voyais, au bout de quelques jours, un nombre variable de zoochlorelles vertes dans le corps de l'Infusoire, comme je l'ai déjà dit plus haut.

Cette simple observation prouve que la zoochlorelle s'inocule par ingestion dans le protoplasma animal ; mais un doute reste ; toutes les Zoochlorelles que nous voyons au bout de quelques jours dans la Paramécie ont-elles été ingérées séparément et ont-elles seulement continué à vivre, ou bien l'Infusoire a-t-il éringé un nombre moindre de ces algues qui se sont ensuite

multipliées à son intérieur? Il m'a été facile de m'assurer que la seconde hypothèse est la vraie.

Pour cela, dès que j'avais vu la Paramécie avaler une Zoochlorelle, je la prenais avec une petite pipette et je la portais dans un verre de montre plein de l'eau filtrée du réservoir d'où elle provenait; je la transportais ainsi successivement dans plusieurs verres de montre et je la montais de nouveau en goutte suspendue. Je m'assurais que la goutte ne contenait aucune Zoochlorelle en dehors de la Paramécie, et je conservais la préparation pour l'observer de temps en temps. En opérant ainsi, j'ai souvent vu la Zoochlorelle rejetée par l'Infusoire, mais souvent aussi le nombre des Zoochlorelles a augmenté de jour en jour par quadripartitions successives. Il me semble que ceci démontre d'une façon irréfutable la nature parasitaire des corpuscules verts, puisqu'un seul d'entre eux, inoculé à une Paramécie, se multiplie à son intérieur et arrive à l'envahir complètement¹.

Par quel mécanisme se produit cette inoculation après ingestion?

Pour l'étudier, je transporte sur un porte-objet non creusé le couvre-objet porteur de la goutte de liquide dans laquelle une Paramécie vient d'avalier une Zoochlorelle; cette goutte se trouve ainsi aplatie, et en aspirant avec précaution le superflu de l'eau de la préparation au moyen d'un papier buvard, je comprime légèrement l'infusoire et je ralentis assez son mouvement pour pouvoir l'observer sans peine avec un fort grossissement.

Au début, comme dans le cas d'une protococcacée quelconque, l'algue avalée est comprise dans une vacuole, c'est-à-dire qu'elle se montre à l'œil entourée d'une aire circulaire claire à bords très nets. Mais ce qui est très particulier au cas de l'ingestion d'une Zoochlorelle, c'est qu'au bout d'un temps très court, 9 à 10 minutes environ, cette aire circulaire a disparu.

Elle ne disparaît pas en se rétrécissant de façon à ce que son contour apparent vienne se confondre avec celui de la Zoochlorelle; au contraire, elle conserve son diamètre initial,

1. Il est intéressant de rapprocher ce fait du phénomène contraire observé par M. Haffkine (*Annales de l'Institut Pasteur*, mars 1890, p. 462). Quand les Paramécies avalaient les spores du microbe causant la maladie infectieuse étudiée par lui, ces spores ne poussaient jamais dans le protoplasma, mais étaient rejetées par l'Infusoire comme une nourriture indigeste.

mais ses bords perdent progressivement leur netteté, la réfringibilité du liquide que contient la vacuole devenant de plus en plus voisine de celle du protoplasma ambiant. Je pense qu'à partir de ce moment, on doit considérer la Zoochlorelle comme se trouvant en contact direct avec le protoplasma animal. Le protoplasma végétal est donc séparé de celui du Protozoaire seulement par une membrane de cellulose à travers laquelle peuvent se faire par osmose des échanges réciproques utiles à chacun¹. La symbiose est établie.

1. Voici une observation que je n'ai malheureusement pu faire qu'une fois et qui, si elle est difficile à interpréter, semble au moins prouver que les relations de symbiose entre l'algue et le protoplasma animal sont assez étroites.

Quand on emprisonne sous un couvre-objet une Paramécie contenant des Zoochlorelles, on remarque que, la pression augmentant par suite de l'évaporation de l'eau (il faut pour cela qu'aucun grain solide volumineux n'existe dans la préparation), il y a un degré d'aplatissement que l'animal ne peut dépasser sans danger. En un ou plusieurs points de son contour apparent son protoplasma fait hernie à l'extérieur, et si l'on n'a pas soin à ce moment d'ajouter de l'eau, l'animal se creève et meurt. Il reprend, au contraire, ses mouvements si l'on diminue la pression par addition de liquide. Si la pression a été très lente et très ménagée, il n'y a pas eu déchirure de l'enveloppe réticulée de l'animal, le protoplasma extravasé est dépourvu de Zoochlorelles, celles-ci ayant précisément été retenues par le filtre réticulé. Le protoplasma, quand il n'est pas sorti en trop grande abondance, rentre petit à petit dans l'animal après que la compression a cessé; quand il en est sorti beaucoup, il s'en isole une partie qui est entraînée dans l'eau sous forme d'une petite sphère hyaline. Si la pression a été un peu brusque et qu'on n'ait pas complètement tué la Paramécie, ce qui arrive malheureusement le plus souvent, on a quelquefois produit chez l'animal une déchirure partielle le long du contour apparent. Par cette déchirure sort du protoplasma contenant, dans le cas actuel, des Zoochlorelles; et souvent, quand on diminue la pression par l'addition de liquide, on voit s'isoler dans le milieu ambiant une sphère protoplasmique contenant une ou plusieurs zoochlorelles (ci-joint un croquis représen-

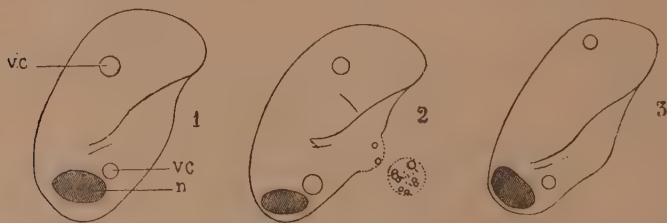


Fig. 1.

tant la mise en liberté d'une sphère protoplasmique contenant 8 de ces algues). Le reste du protoplasma extravasé demeure fixé à l'animal, et il se produit une cicatrisation que je ne m'arrête pas à décrire ici. Cette sphère protoplasmique peut se maintenir longtemps dans le liquide, roulant au gré des courants sans changer

Il m'a été impossible de faire ingérer en même temps qu'une Zoochlorelle un grumeau d'alizarine sulfoconjuguée, je ne sais donc pas s'il y a sécrétion d'acide dans la vacuole éphémère qui entoure l'algue au moment de son ingestion; c'est peu probable puisque la Zoochlorelle reste verte et qu'une Zoochlorelle bien vivante introduite, en dehors de la paramécie, dans une solution acide faible, se laisse pénétrer par cette solution et brunit rapidement.

Il est assez rare de trouver dans les infusions naturelles des *Paramécium Bursaria* dépourvues de Zoochlorelles; on peut se procurer assez facilement ces Infusoires à l'état incolore en conservant plusieurs jours à l'obscurité le liquide qui les contient. Dans ces conditions, la plupart des Zoochlorelles brunissent, subissent probablement une digestion plus ou moins complète et sont rejetées brunes par l'Infusoire; des Zoochlorelles brunes se trouvent d'ailleurs, en général, en nombre variable mais restreint dans les Paramécies vertes.

On débarrasse difficilement par le séjour à l'obscurité toutes les Paramécies de toutes les Zoochlorelles, mais on en obtient quelques-unes qui sont parfaitement hyalines; ces Paramécies, isolées avec soin, restent ensuite indéfiniment incolores, mais les individus restés dans l'infusion redeviennent rapidement verts si on laisse l'infusion au jour, ceux d'entre eux qui ont

de forme, mais je pense que sa substance doit se modifier assez rapidement dans ces conditions anormales.

Dans une de ces expériences que je faisais dans le but d'étudier la cicatrisation, j'ai vu la Paramécie même qui venait d'éprouver cette perte de substance avaler, environ une demi-heure après son accident, la sphère protoplasmique contenant deux Zoochlorelles qu'elle avait abandonnées. Tout se passa comme si les Zoochlorelles avaient été des algues ordinaires; la sphère protoplasmique fut digérée, les deux algues devinrent brunes au bout de $3/4$ d'heure environ; or, il serait difficile de considérer ces algues comme déjà mortes au moment de l'ingestion puisque, isolées de leur hôte, elles conservent, en général, bien plus d'une demi-heure la propriété de s'inoculer dans un être nouveau. Il y a donc relation tellement étroite entre la Zoochlorelle et le protoplasma ambiant, qu'une sphère de cette substance, extraite une demi-heure du contenu cellulaire, se comportant vis-à-vis du reste du protoplasma comme un corps étranger, les Zoochlorelles qu'elle contient sont également traitées comme un corps étranger. N'y a-t-il pas quelque chose d'analogue dans ce qu'a remarqué Famintzin (*op. cit.*, p. 10, lignes 31-33), au cours de ses essais de culture des Zoochlorelles du *Stentor polymorphus*: « Chose étonnante, restaient vivantes dans l'agar-agar, seulement les Zoochlorelles qui se trouvaient isolées et en dehors du plasma du stentor; celles qui étaient entourées d'une masse de plasma mouraient presque toutes; il m'est impossible de m'expliquer cette particularité. »

conservé des parasites étant une cause d'infection pour les autres.

Il semble probable qu'à l'obscurité les Zoochlorelles, ne pouvant plus exercer leurs fonctions chlorophylliennes ordinaires, dépérissent ou même peut-être meurent, et c'est alors qu'elles sont digérées par leur hôte.

En résumé, ce que l'on peut affirmer actuellement, c'est que les corpuscules verts des Paramécies sont des algues unicellulaires très voisines, sinon identiques à une algue vivant en liberté que Beyerinck a appelée *Chlorella vulgaris*.

Elles ont une vie propre et sont susceptibles de vivre en dehors de l'organisme animal dans des milieux absolument inorganiques.

Elles s'inoculent dans les Paramécies quand elles sont ingérées par ces Infusoires et se développent à leur intérieur par quadripartitions successives.

REVUES ET ANALYSES

LA DIFFÉRENCIATION DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES

REVUE CRITIQUE

GANNAL, *Gazette médicale de Paris*, 1858. — DENIS, Mémoire sur le sang. Paris, 1859. — Etude sur les substances albuminoïdes. Paris, 1859. — W. KUHNE, *Zeitschr. f. Biol.*, *passim*. — S. LEWITH, *Archiv. f. exp. Pathol.*, 24, et *Maly's Jahresb.* 17. — J. SEBELIEN, Recherches sur le dosage des matières albuminoïdes. *Zeitschr. f. phys. Chemie*, t. XIII, 1889. — Il a été publié sur ce sujet une multitude de travaux dont il serait trop long de citer les auteurs et les titres. On les trouvera surtout dans la collection du *Zeitschrift fur Biologie*, du *Maly's Jahresbericht*, de *Pfluger's Archiv.* et de *Archiv. f. exp. Pathol.* dans ces 20 dernières années. — Consulter à ce sujet le livre très condensé et très clair de O. HAMMARSTEN, *Lehrbuch der physiologischen Chemie*. Wiesbaden, 1891, et le *Cours de chimie biologique*, très bien documenté, de M. A. GAUTIER. Paris, 1892.

Je terminais ma dernière revue (décembre 1891) en disant que nous n'avions pas encore réussi à pénétrer les secrets de construction de la molécule albuminoïde. Quelles sont les dispositions relatives et les liaisons réciproques des atomes de carbone, d'hydrogène, d'azote, d'oxygène, et éventuellement de soufre et de phosphore, qui forment la trame de tous nos tissus? Quelles sont les modifications de structure qui distinguent une matière albuminoïde d'une autre, la caséine de l'albumine, la fibrine du gluten? Nous l'ignorons. Tout ce que nous révèle jusqu'ici l'expérience, c'est que ces diverses substances n'ont pas la même composition, mais diffèrent peu l'une de l'autre. D'un autre côté, elles ne sont pas identiques au point de vue de leurs propriétés et de leur rôle fonctionnel, mais elles se rapprochent beaucoup. De là l'idée toute naturelle d'expliquer à la fois ces ressemblances et ces différences par les mêmes moyens que pour d'autres groupes chimiques mieux connus, c'est-à-dire par des notions d'*homologie* ou d'*isomérisie*.

Les corps gras sont, par exemple, des mélanges de substances homologues. Chacune d'elles renfermant un alcool trivalent, la glycérine, combiné à trois groupements d'acides gras, comme on passe de l'un de ces acides à l'acide immédiatement supérieur en ajoutant au

premier une molécule C H^3 , un triglycéride gras diffère de celui qui le précède dans la série en ce qu'il contient C^3H^6 en plus, pour la même quantité d'oxygène.

Peut-être les matières albuminoïdes sont-elles aussi des mélanges de substances homologues, dont les formules, ramenées à contenir une même quantité d'oxygène, ou d'azote, montreraient des gradations dans les proportions de carbone et d'hydrogène permettant de les arranger en séries homologues. Mais à coup sûr il y a autre chose, et les questions d'homologie s'y superposent à des questions d'isomérisie qui sont peut-être prépondérantes.

J'ai indiqué, dans ma dernière Revue sur ce sujet, comment se produisaient les isomérisies dans les groupes les plus simples, soit de la série grasse, soit de la série aromatique. Le nombre des isomères possibles croît à mesure qu'augmente le nombre d'atomes de carbone de la molécule, c'est-à-dire le nombre de places auxquelles on peut souder un maillon latéral destiné à devenir lui-même le point de départ d'une chaîne nouvelle, et il n'y a pas de meilleure image à donner du genre de prestidigitation auquel la chimie se livre avec succès sous ce rapport, que de rappeler ce que chacun a vu faire sur les théâtres de foire, où, avec un certain nombre d'anneaux qu'il enchevêtre savamment, le magicien de la bande réussit à faire les ensembles les plus variés, une chaîne ouverte, fermée, une croix latine, grecque, russe, un polygone régulier, étoilé, etc. Toutes ces figures si diverses, dont le nombre possible croît évidemment beaucoup plus vite que le nombre des anneaux, sont des *métamères*, lorsque les figures formées par un même nombre d'anneaux sont très différentes, des *isomères*, lorsque ces figures sont établies sur un plan commun. Si dans chacun des isomères variés ainsi obtenus par un mode de groupement des atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, on remplace un des anneaux représentant un atome d'hydrogène par un triangle fixé au groupement par un de ces sommets, pendant que les deux autres portent chacun un anneau d'hydrogène, on aura l'image de la substitution d'une molécule d'amidogène AzH^2 à un atome d'hydrogène, et la représentation schématique de la formation des amides ou des acides amidés. Cet atome triangulaire d'azote, entrant à diverses places dans le groupement, amène une série d'isomérisies nouvelles, suivant qu'il sera soudé ici ou là, et on pourra ainsi avoir une multitude de corps de même composition élémentaire, contenant le même nombre d'atomes de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, d'azote, présentant entre eux des analogies résultant du plan général de la construction, et des différences résultant des changements dans le détail de l'arrangement des atomes. Telle est en ce moment l'image la plus nette que nous puissions nous former des diverses matières albuminoïdes.

Seulement, si la chose est ainsi, voici une conclusion qui s'impose. A mesure qu'augmente, avec la complication de la molécule, le nombre d'isomères de même composition atomique, mais de structure différente, ces isomères en arrivent à ne plus être séparés que par des points de détail, à présenter par suite des propriétés très voisines, à avoir par exemple presque les mêmes points de fusion, d'ébullition, à se comporter à peu près de même quant à leur solubilité, leur indice de réfraction, etc.

Quelques-uns peuvent, lorsque de certaines dissymétries se sont produites dans leur structure, prendre le pouvoir rotatoire, et d'autres en rester privés. Ainsi, parmi un groupe d'alcools isomères relativement simple, celui des alcools amyliques, groupe qui, avec cinq atomes de carbone seulement, compte huit membres possibles, dont sept réalisés, il y en a un qui est actif sur la lumière polarisée. Mais cette différence de propriétés ne l'a pas moins laissé confondu avec les autres, jusqu'au jour où les progrès de nos connaissances en chimie atomique ont permis d'aborder l'étude de la formule de constitution de ces alcools. C'est par des dislocations ménagées, par des synthèses adroites qu'on est arrivé à percer le secret de cet édifice relativement simple; ce n'est pas en isolant les divers alcools par les procédés de l'analyse immédiate qu'on est arrivé à les distinguer; et ce qu'on n'a pu faire dans un cas aussi facile, comment espérer y arriver avec les matières albuminoïdes, qui sont si rétives à la combinaison, dont nous ne savons faire ni la dislocation ménagée, ni la synthèse, et qui se comportent à peu près de même vis-à-vis de tous les réactifs? Tout ce que nous savons sur elles nous indique qu'il faudra employer des procédés délicats pour manifester leurs différences.

I

C'est pourtant ce problème difficile qui se trouverait résolu par les moyens en apparence les plus simples, s'il fallait en croire aveuglément les indications de la science actuelle de celle qu'on trouve dans presque tous les livres élémentaires et dans les mémoires les plus savants. Il suffirait, pour distinguer les diverses matières albuminoïdes les unes des autres, d'actions banales, comme l'est, par exemple, celle des sels alcalins ou alcalino-terreux. Qu'il s'agisse de l'albumine de l'œuf, de la caséine du lait, d'une sérosité d'hydrocèle ou d'ascite, du sérum sanguin, bref d'un liquide quelconque contenant plusieurs matières albuminoïdes, il suffit, nous dit-on, pour séparer les uns des autres les divers éléments du mélange, d'appliquer le formulaire suivant.

Prenons, par exemple, du blanc d'œuf, agitions-le longuement dans

l'eau après avoir coupé avec des ciseaux les membranes qui l'empêchent de s'y répandre. En filtrant, nous obtenons un liquide limpide et homogène dans lequel nous introduirons, à 20°, du sulfate de magnésie en nature, ou que nous mélangerons, ce qui revient à peu près au même, avec son volume d'une dissolution saturée de sulfate d'ammoniaque. Il se fait un précipité volumineux qu'on filtre et qu'on lave avec une solution saturée de sulfate de magnésie. Le précipité, bien lavé, est remis en solution dans l'eau pure, et soumis à une longue dialyse, de façon à éliminer la presque totalité du sel qu'il a retenu. On obtient ainsi la *globuline de l'œuf*.

Le liquide qui a passé au travers du filtre, lors de la filtration du précipité de globuline, contient l'*albumine de l'œuf*. On peut la précipiter, à son tour, soit en saturant la liqueur de sulfate d'ammoniaque, si on a employé ce sel comme précipitant, soit, si on s'est servi de sulfate de magnésie, en ajoutant à refus du sulfate de soude, toujours à 20°. L'albumine se précipite; on filtre, on sèche de son mieux le précipité en le comprimant entre plusieurs doublés de papier joseph, on le soumet à la dialyse jusqu'à disparition du sel, et on évapore la solution dans le vide à 40° ou 50°. Si on chauffait davantage, ou si on précipitait par l'alcool, l'albumine deviendrait insoluble.

Dans l'albumine de l'œuf, cette méthode ne permet de découvrir que deux matières différentes. Il est vrai que Corin et Bérard ont distingué deux globulines se coagulant l'une à 57°,5, l'autre à 67°, et trois albumines, avec des températures de coagulation de 67°, 72° et 82°. Avant eux, MM. Gautier et Béchamp n'en avaient distingué que deux. Mais ce sont là des finesses qui ne sont pas admises par tout le monde. Contentons-nous, pour le moment, d'étudier les grandes divisions.

Nous venons d'en voir deux : la globuline et l'albumine. Il y en a une troisième, la *nucléo-albumine*, dont la caséine du lait nous fournit un exemple. Pour la séparer, il suffit de saturer du lait avec du chlorure de sodium en nature, et finement pulvérisé. La nucléo-albumine se précipite. Elle est malheureusement mélangée d'un peu de globuline, car les globulines ne sont pas absolument insolubles dans les solutions saturées de sel marin. Nous n'en avons pas moins un nouveau type de matière albuminoïde, la nucléo-albumine, à ajouter aux deux premiers.

Si on s'en tient aux renseignements fournis, les caractères distinctifs de ces trois types sont faciles à écrire. Les *nucléo-albumines* et les *globulines* sont insolubles dans l'eau pure, tout à fait débarrassée de sels; les *albumines* sont solubles. Quand on emploie comme dissolvants des solutions pauvres en sels, comme le sont, par exemple, les liquides naturels de l'économie, les globulines se dissolvent, les nucléo-

albumines restant insolubles. Enfin, en présence de solutions concentrées, les globulines se précipitent à leur tour, pendant que les albumines restent dissoutes pour ne se précipiter qu'en présence des solutions saturées de certains sels très solubles. Toutes ces distinctions se trouvent résumées dans le tableau suivant, où S signifie soluble et I insoluble :

| | Eau pure. | Sels étendus. | Sels concentrés. |
|-----------------------|-----------|---------------|------------------|
| Nucléo-albumines..... | I | I | I |
| Globulines | I | S | I |
| Albumines..... | S | S | S |

On voit qu'en principe, au moins, la distinction des types est très nette.

A ces différences, on en ajoute d'ordinaire d'autres. Ainsi, les nucléo-albumines, très répandues dans le monde animal et végétal, sont considérées comme formant la partie principale du protoplasma cellulaire, pendant que les globulines et albumines sont surtout des éléments des liquides organiques. Les nucléo-albumines se distinguent aussi en ce qu'elles contiennent du phosphore, et en ce que leur digestion pepsique en sépare un produit phosphoré, la *nucléine*, qui, d'après Lieberman, est une combinaison d'albumine et d'acide phosphorique. En échange, elles contiennent, en moyenne, moins de soufre que les globulines, qui en renferment pourtant moins de 1 0/0, et surtout que les albumines, chez lesquelles la teneur en soufre peut s'élever de 1,6 à 2 0/0. Je laisse de côté d'autres différences relatives à l'action des acides et des alcalis, et à la température de coagulation. Elles sont plus contingentes que les précédentes, et nous les retrouverons dans une autre Revue.

II

Demandons-nous maintenant ce que valent les distinctions que nous venons de faire, et, d'abord, celles qui nous ont servi à établir notre classification, et qui résultent de l'emploi des sels neutres. Jusqu'ici, les définitions que nous avons données des nucléo-albumines, globulines et albumines, est, remarquons-le, une simple définition de mots, non une définition de choses. Nous avons appelé globuline tout ce qui se précipite sous l'action du sulfate de magnésie en excès, albumine tout ce qui se précipite sous l'action du sulfate d'ammoniaque en excès, sans nous être assurés que les substances ainsi nommées avaient chacune leur individualité. C'est ainsi qu'en chemin de fer, on classe, suivant certaines conventions, les voyageurs en premières, secondes ou troisièmes, sans pourtant qu'au

fond ces voyageurs soient différents. N'en serait-il pas de même de notre classement au moyen des sels neutres? En chimie, les réactions de précipitation ne servent qu'à séparer et à purifier les corps, mais non à les définir. Cette définition ne résulte que de leur étude à l'état pur, de leur analyse, de la mise en évidence de celles de leurs propriétés permanentes qui les distinguent de leurs voisins, et quand on ne trouve dans des livres, à propos des nucléo-albumines, globulines et albumines, que les distinctions, évidemment flottantes et sans précision, que nous avons résumées plus haut, on se demande où sont les caractères de l'espèce chimique. La nucléo-albumine, nous dit-on, existe surtout dans le protoplasma et se rencontre de préférence dans les organes les plus riches en cellules; les globulines et les albumines existent surtout dans les sécrétions et les liquides organiques. Nous voilà bien avancés! Ce n'est pas là une distinction d'ordre chimique, ni même d'ordre physiologique, tant, physiologiquement, les liquides organiques et les sucs cellulaires sont confondus. En fait, nous trouvons de la caséine, qui est une nucléo-albumine, dans le lait, qui est une sécrétion. Cette caséine y est accompagnée de phosphate de chaux en nature, comme je l'ai montré; le phosphate de chaux est entraîné par la caséine au moment où elle se précipite, en liqueur neutre, sous l'influence d'une cause quelconque; et voilà peut-être l'origine de la distinction relative à l'existence d'un élément phosphoré dans les nucléo-albumines, élément qui n'existe pas ou est plus rare ailleurs. En outre, dans ces nucléo-albumines, il y a sûrement, vu leur origine et leur insolubilité dans l'eau, un mélange d'éléments cellulaires détruits ou en voie de destruction, de globules blancs, de noyaux qui passent au travers des filtres, se précipitent avec la nucléo-albumine, et dont on compte les éléments si variés avec ceux de cette substance. En voilà assez pour nous enlever toute confiance dans les caractères donnés comme distinctifs pour les trois types provenant de l'action des sels neutres, et nous sommes conduits à nous retourner du côté de la méthode de séparation pour lui demander ce qu'elle vaut.

III

Notre première remarque sera celle-ci. Nous nous sommes servis pour nos précipitations du sel marin, des sulfates de magnésie, d'ammoniaque et de soude. Nous aurions pu nous servir d'un sel neutre quelconque, car tous sont capables, à des degrés divers, de précipiter les diverses matières albuminoïdes. Les moins solubles ou les moins actifs ne précipitent que les matières les plus facilement précipitables,

les nucléo-albumines et les globulines. Beaucoup s'arrêtent à ce dernier terme, et il n'y en a guère que deux, le sulfate d'ammoniaque et l'acétate de potasse, qui soient à la fois assez solubles et assez actifs pour précipiter les albumines. Mais tous les sels neutres des métaux alcalins et alcalino-terreux, que l'acide soit minéral ou organique, ont une action qu'ils poussent plus ou moins loin. Voilà donc ces matières albuminoïdes, si réfractaires à la combinaison, comme nous l'avons dit plus haut, qui contractent maintenant alliance avec tous les sels, quels qu'ils soient, car l'action ne se borne pas aux sels du commencement de la série des métaux, elle s'étend à la série tout entière. Ces précipitations dites *métalliques*, au lieu d'avoir ce caractère individuel et précis qui, seul, leur donne de la valeur en chimie, ont donc un caractère banal des mieux accusés.

Cette banalité s'accuse encore par ce fait que ces mêmes solutions de sels neutres ne précipitent pas seulement les matières albuminoïdes, elles précipitent aussi une foule de corps colloïdaux, le savon, l'amidon cuit, l'amiduline, l'inuline, le glycogène, l'iodure d'amidon, la gélatine, diverses matières colorantes; elles précipitent aussi les dissolutions colloïdales de silice, d'alumine, d'oxyde de fer. Bref, il semble que la substance sur laquelle elles agissent soit indifférente, il suffit, comme l'a fait observer Nasse, qu'elle soit à l'état colloïdal.

La surprise que pourrait produire cette conclusion disparaît en présence des considérations suivantes. Les corps en dissolution colloïdale passent, comme on sait, plus ou moins facilement au travers des filtres de papier, mais sont presque entièrement arrêtés par les filtres en porcelaine dégourdie, dont les canaux sont beaucoup plus fins, et n'admettent que les liquides et les substances qui peuvent entrer en solution véritable, comme les sels. Les substances en solution colloïdale se rassemblent à la surface des filtres, et y forment une barrière plus ou moins épaisse qui devient bientôt elle-même le principal obstacle à la filtration, parce que, si le filtre a des canaux très fins et peu perméables, ces canaux, au moins, ne s'obstruent pas, tandis que le dépôt colloïdal de la surface n'a que des interstices qui se bouchent bientôt, à mesure que la pression de filtration les remplit de matériaux et les comprime plus étroitement sur la surface de porcelaine.

Il en est ainsi pour la caséine du lait qui, ainsi que je l'ai montré, est presque en totalité à l'état de suspension colloïdale. Pour l'albumine de l'œuf, qu'on a diluée dans l'eau, la proportion de matière qui peut passer au travers du filtre en porcelaine est variable suivant que l'œuf est plus ou moins frais, mais elle est toujours plus grande que pour la caséine, et peut atteindre et dépasser la moitié de l'albu-

mine totale. Il y a de même pour chaque liquide albumineux une portion filtrable et une portion non filtrable à travers la porcelaine, ces deux portions pouvant toutes deux filtrer au travers du papier et donner ainsi l'illusion d'une solution parfaite.

Cela posé, voici ce qui se passe. L'addition d'un sel neutre quelconque, à faible concentration, dans ce mélange, a pour effet de condenser en grumeaux, de rendre par conséquent insolubles en apparence, et non filtrables au travers du papier, les portions de substance qui étaient les plus gélatineuses, les plus voisines de l'état solide, celles qui en venant se coller à la surface du filtre de porcelaine, en diminuaient rapidement la perméabilité. La chose est facile à voir avec l'albumine d'œuf. Sitôt qu'on a obtenu, par l'addition d'un sel du reste quelconque, un coagulum qui entraîne les éléments les plus grossiers de la solution apparente du blanc d'œuf, la filtration au travers du papier, comme aussi celle à travers du filtre de porcelaine, deviennent très faciles et très promptes. Mais les éléments arrêtés n'ont pas été *précipités* par le sel : ils n'étaient pas plus en solution avant qu'après son action.

Avant comme après, ils ne pouvaient passer au travers d'une bougie Chamberland. Ils étaient seulement filtrables au travers du papier, et ne le sont plus ; en sorte que si on voulait donner une définition précise des globulines de l'œuf, il faudrait les définir comme des *matières albuminoïdes qui, en présence des sels, ne passent pas au travers du papier à filtre, tandis qu'elles y passent en l'absence des sels ou quand on les dilue*. Ce caractère ne semble pas suffisant pour une distinction d'espèces.

A mesure que la proportion de sel neutre dissous augmente dans le liquide, la rétrogradation vers cet état insoluble, la transformation en grumeaux non filtrables au travers du papier, gagne des portions de matières plus voisines de celles qui sont en solution véritable ; puis, à leur tour, celles qui pourraient passer au travers du filtre en porcelaine, et on finit ainsi par tout précipiter, ou plutôt presque tout. Mais à quel niveau faut-il placer la barrière entre les nucléo-albumines, les globulines et les albumines, c'est ce qu'il est fort délicat de décider, tant qu'on n'a pas bien démontré qu'il y en a une.

Sans avoir la notion précise des faits sur lesquels je viens d'insister, et convaincus qu'ils assistaient à de véritables précipitations chimiques, les premiers savants qui ont essayé de ces moyens de classification s'étaient pourtant bien aperçus que tous leurs précipités n'avaient rien de net, et s'enchevêtraient parfois les uns dans les autres. C'est alors qu'ils avaient été contraints de faire intervenir les conventions, de fixer la nature et la proportion du sel à employer, sulfate de magnésie ou sulfate d'ammoniaque, de définir la température, 20° dans un cas, 30° dans un autre, de tenir compte aussi de la concentration

des liqueurs à analyser, etc. Toutes ces conventions sont au fond très innocentes, et l'histoire des matières albuminoïdes a de quoi régaler ceux qui les aiment. Mais on voit combien elles sont artificielles, et indignes de fournir les éléments d'une classification. Je reconnais toutefois que ce serait leur manquer de respect que de s'en tenir avec elles à cette condamnation sommaire, prononcée au nom des principes. Il faut les voir à l'œuvre et les étudier dans leurs résultats. C'est ce que nous ferons dans une Revue prochaine.

E. DUCLAUX.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées prises de rage pendant le traitement.

GEORGETTE DROUET, 6 ans, d'Issy (Seine).

Georgette Drouet, mordue le 7 février, s'est présentée à l'Institut Pasteur et a été inoculée pour la première fois le 25 février. Elle portait à la tête une blessure partant de l'arcade sourcillière gauche remontant sur le crâne et se prolongeant sur une longueur de 44 centimètres, la paupière avait été déchirée.

Le 9 mars, la jeune Drouet présente une aérophobie très marquée; elle est conduite à l'Hôpital des enfants où elle meurt le 11; d'après les renseignements fournis par son père, les premiers symptômes se sont manifestés vers le 7 mars.

Le chien mordeur avait été abattu le 9 février et soumis le 24 à l'examen de M. Lecomte, vétérinaire à Issy, qui avait conseillé l'envoi à l'Institut Pasteur de l'enfant mordue.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE ¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE — FÉVRIER 1892.

| | A | | B | | C | |
|--|----|----|----|-----|----|----|
| Morsures à la tête { simples | » | » | » | 4 | 5 | » |
| et à la figure { multiples | » | » | » | 1 | 5 | » |
| Cautérisations efficaces | » | » | » | » | » | » |
| — inefficaces | » | » | » | 1 | » | » |
| Pas de cautérisation | » | » | » | 4 | » | » |
| Morsures aux mains { simples | » | 6 | » | 29 | 52 | » |
| multiples | » | 2 | » | 23 | » | 15 |
| Cautérisations efficaces | 1 | » | » | 1 | » | » |
| — inefficaces | 4 | » | » | 23 | » | 9 |
| Pas de cautérisation | 3 | » | » | 28 | » | 13 |
| Morsures aux mem- { simples | » | 3 | » | 16 | 29 | » |
| bres et au tronc { multiples | » | 2 | » | 13 | » | 12 |
| Cautérisations efficaces | » | » | » | » | » | » |
| — inefficaces | 2 | » | » | 13 | » | 9 |
| Pas de cautérisation | 3 | » | » | 16 | » | 10 |
| Habits déchirés | 4 | » | » | 21 | » | 16 |
| Morsures à nu | 1 | » | » | 8 | » | 3 |
| Morsures multiples en divers points du corps | » | » | » | 4 | 4 | 1 |
| Cautérisations efficaces | » | » | » | » | » | » |
| — inefficaces | » | » | » | 2 | » | » |
| Pas de cautérisation | » | » | » | 2 | » | 1 |
| Habits déchirés | » | » | » | 2 | » | » |
| Morsures à nu | » | » | » | 2 | » | 1 |
| Totaux. { Français et Algériens | 13 | 13 | 67 | 80 | 26 | 42 |
| Etrangers | » | » | 13 | » | 16 | » |
| | A | | B | | C | |
| TOTAL GÉNÉRAL | | | | 135 | | |

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 130 fois; chats, 5 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. -- Imprimerie Charaire et C^{ie}.

